

ВЕСТНИК  
РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ  
МЕДИЦИНСКИХ  
НАУК



70(2)

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

---

# ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

---

*Научно-теоретический журнал. Выходит один раз в два месяца. Основан в 1946 г.*  
DOI: 10.15690/vramn.v70i2

Входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК  
Учредитель — Российская академия медицинских наук

Главный редактор И.И. ДЕДОВ

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:**

Э.К. АЙЛАМАЗЯН, А.И. АРЧАКОВ, Л.И. АФТАНАС, А.А. БАРАНОВ, В.В. БЕРЕГОВЫХ (зам. гл. редактора),  
Л.А. БОКЕРИЯ, Н.Н. ВОЛОДИН, Н.Ф. ГЕРАСИМЕНКО, Е.К. ГИНТЕР, П.В. ГЛЫБОЧКО, Е.З. ГОЛУХОВА,  
В.В. ЗВЕРЕВ, Р.С. КАРПОВ, С.И. КОЛЕСНИКОВ, В.В. КУХАРЧУК, Г.А. МЕЛЬНИЧЕНКО, Н.А. МУХИН,  
Е.Л. НАСОНОВ, Г.Г. ОНИЩЕНКО, В.И. ПЕТРОВ, В.И. ПОКРОВСКИЙ, В.П. ПУЗЫРЁВ, В.Г. САВЧЕНКО,  
В.И. СЕРГИЕНКО, Г.А. СОФРОНОВ, В.И. СТАРОДУБОВ, Г.Т. СУХИХ, В.А. ТУТЕЛЬЯН (зам. гл. редактора),  
И.Б. УШАКОВ, Р.М. ХАЙТОВ, Е.И. ЧАЗОВ, В.П. ЧЕХОНИН, В.И. ЧИССОВ, Е.В. ШЛЯХТО

**НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР:** А.М. ГОЛУБЕВ

---

## 2015/том 70/№2

---

Журнал «Вестник Российской академии медицинских наук» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 16.09.1992 г. Регистрационный номер 01574.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов.

Воспроизведение или использование другим способом любой части издания без согласия редакции является незаконным и влечет за собой ответственность, установленную действующим законодательством РФ

Тираж 1000 экз. Подписные индексы: в агентстве Роспечать — 71488, в агентстве «Пресса России» — 38814

Издательство «ПедиатрЪ»: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2/62, тел./факс: +7 (499) 132-30-43, [www.spr-journal.ru](http://www.spr-journal.ru)  
e-mail: [vestnikramn@nczd.ru](mailto:vestnikramn@nczd.ru)

ООО «ХОМОПРИНТ»: 117623, Москва, ул. Типографская, д. 10

THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

---

# ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

---

*Published bimonthly. Founded in 1946.*

DOI: 10.15690/vramn.v70i2

The Journal is in the List of the leading scientific journals and publications  
of the Supreme Examination Board (VAK)

Founder — The Russian Academy of Medical Sciences

**Editor-in-chief I.I. Dedov**

**EDITORIAL BOARD:**

E.K. AILAMAZYAN, A.I. ARCHAKOV, L.I. AFTANAS, A.A. BARANOV, V.V. BEREGOVYKH (deputy editors-in-chief),  
L.A. BOKERIYA, N.N. VOLODIN, N.F. GERASIMENKO, E.K. GINTHER, P.V. GLYBOCHKO, L.Z. GOLUKHOVA,  
V.V. ZVEREV, R.S. KARPOV, S.I. KOLESNIKOV, V.V. KUKHARCHUK, G.A. MELNICHENKO, N.A. MUKHIN,  
E.L. NASONOV, I.I. ONISHCHENKO, V.I. PETROV, V.I. POKROVSKII, V.P. PUZYREV, V.G. SAVCHENKO,  
V.I. SERGIENKO, G.A. SOFRONOV, V.I. STARODUBOV, G.T. SUKHIKH, V.A. TUTELYAN (deputy editors-in-chief),  
I.B. USHAKOV, R.M. KHAITOV, E.I. CHAZOV, V.P. CHEKHONIN, V.I. CHISSOV, E.V. SHLYAKHTO

**RESEARCH EDITOR: A.M. GOLUBEV**

---

# 2015/70 (2)

---

Mass media registration certificate dated September, 16, 1992. Series № 01574 Federal service for surveillance over non-violation  
of the legislation in the sphere of mass communications and protection of cultural heritage.

Editorial office takes no responsibility for the contents of advertising material.

No part of this issue may be reproduced without permission from the publisher. While reprinting publications one must make reference  
to the journal «Annals Of The Russian Academy Of Medical Sciences»

Edition 1000 copies. Subscription indices are in the catalogue «Rospechat» 71488

Publisher «PEDIATR»: 2/62, Lomonosov avenue, Moscow, 119991, tel./fax: +7 (499) 132-30-43, [www.spr-journal.ru](http://www.spr-journal.ru)  
e-mail: [vestnikramn@nczd.ru](mailto:vestnikramn@nczd.ru)

Printed in the printing office «KHOMOPRINT», 10, Tipografskaya st., Moscow, 117623

МАТЕРИАЛЫ ОБЩЕГО СОБРАНИЯ ОТДЕЛЕНИЯ  
МЕДИЦИНСКИХ НАУК РАН

- И.И. Дедов, М.В. Шестакова, Т.Л. Кураева, Е.В. Титович, Т.В. Никонова** Нозологическая гетерогенность, молекулярная генетика и иммунология аутоиммунного сахарного диабета **132**
- В.Т. Ивашкин, А.Ф. Шептулина, К.Л. Райхельсон, Е.А. Лосик, К.В. Ивашкин, А.В. Охлобыстин, Е.К. Баранская, Е.А. Полуэктова, О.С. Шифрин** Аутоиммунные заболевания органов пищеварительной системы **139**
- О.П. Колесникова, О.Т. Кудалева, Н.Н. Вольский, Е.В. Гойман, Е.Д. Гаврилова, О.М. Перминова, Е.Н. Демченко, В.А. Козлов** Экспериментальная модель аутоиммунного процесса: роль эпигенетической изменчивости в популяции мышей-гибридов **152**
- А.А. Кубанова, А.Э. Каримова, А.А. Кубанов** Поиск мишеней для таргетной терапии аутоиммунных заболеваний в дерматологии **159**
- В.И. Мазуров, Е.А. Трофимов** Инновационные методы лечения системных аутоиммунных заболеваний **165**
- Е.Л. Насонов, Е.Н. Александрова, А.А. Новиков** Аутоиммунные ревматические заболевания — проблемы иммунопатологии и персонализированной терапии **169**
- М.А. Пирадов, Н.А. Супонева** Аутоиммунные заболевания нервной системы: состояние проблемы и перспективы **183**

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КАРДИОЛОГИИ

- Л.Н. Маслов, Н.В. Нарыжная, Ю.К. Подоксенев, А.С. Горбунов, И. Жанг, Ж.-М. Пей** Роль брадикинина в механизме ишемического preconditionирования сердца. Перспективы применения брадикинина в кардиохирургической практике **188**
- И.А. Хлопина, Е.Н. Шацова, В.В. Лупачев, А.Н. Плакуев, А.В. Чернозёмова, Р.В. Кубасов** Характеристика диастолической функции левого желудочка у больных после аортокоронарного шунтирования **196**

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПЕДИАТРИИ

- Г.В. Вольнец, Н.Н. Евлюхина, А.В. Филлин, А.С. Потанов, И.В. Дворяковский, Г.М. Дворяковская, А.Н. Сурков, А.А. Шавров, Н.Л. Пахомовская, Т.А. Скворцова** Структура и функция печени и их нарушения при хронических болезнях гепатобилиарной системы у детей **203**
- В.Р. Кучма, Е.А. Ткачук** Гигиеническая оценка учебных текстов: методические подходы и оценка трудности для детей общеобразовательных учебников **214**
- А.А. Лебеденко, О.Е. Семерник** Особенности вегетативного реагирования у детей с бронхиальной астмой в периоде обострения заболевания **222**
- Е.В. Бойцова, М.А. Беляшова, Д.Ю. Овсянников** Современные представления об интерстициальных заболеваниях легких у детей **227**

## НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

- С.И. Колесников, Б.Я. Власов, Л.И. Колесникова** Сероводород как третья эссенциальная газовая молекула живых тканей **237**
- С.В. Мичурина, Ю.И. Бородин, С.И. Колесников, И.Ю. Ищенко, В.И. Коненков** Печень и ее лимфатический регион при воздействиях бенз[а]пирена в эксперименте **242**
- Г.Г. Опищенко, Э.А. Москвитина, В.Д. Кругликов, С.В. Титова, О.Л. Адаменко, А.С. Водопьянов, С.О. Водопьянов** Эпидемиологический надзор за холерой в России в период седьмой пандемии **249**
- С.А. Тимофеев** Современные представления о микроспориidioзе человека **257**

## ЮБИЛЕИ

**Владимир Алексеевич Солодкий**  
**Рэм Викторович Петров**

## ПАМЯТИ КОЛЛЕГИ

**Памяти профессора Л.А. Яковлевой**

PROCEEDINGS OF THE GENERAL MEETING  
OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES, RAS

- I.I. Dedov, M.V. Shestakova, T.L. Kuraeva, E.V. Titovich, T.V. Nikonova** Nosological Heterogeneity, Molecular Genetics and Immunology of Autoimmune Diabetes Mellitus **132**
- V.T. Ivashkin, A.F. Sheptulina, K.L. Raikhelson, E.A. Losik, K.V. Ivashkin, A.V. Okhlobystin, E.K. Baranskaya, E.A. Polouektova, O.S. Shifrin** Autoimmune Diseases of Digestive System **139**
- O.P. Kolesnikova, O.T. Kudaeva, N.N. Volsky, E.V. Goiman, E.D. Gavrilova, O.M. Perminova, E.N. Demchenko, V.A. Kozlov** The Experimental Model of Autoimmune Process: the Role of Epigenetic Variation in the Population of Mice Hybrids **152**
- A.A. Kubanova, A.E. Karamova, A.A. Kubanov** Future Therapeutic Targets in Management of Autoimmune Skin Diseases **159**
- V.I. Mazurov, E.A. Trofimov** Innovative Methods of Some Systemic Autoimmune Diseases Treatment **165**
- E.L. Nasonov, E.N. Aleksandrova, A.A. Novikov** Autoimmune Rheumatic Diseases — Problems of Immunopathology and Personalized Treatment **169**
- M.A. Piradov, N.A. Suponeva** Autoimmune Diseases of the Nervous System: Problem Statement and Prospects **183**

## CARDIOLOGY: CURRENT ISSUES

131

- L.N. Maslov, N.V. Naryzhnaia, Yu.K. Podoksenov, A.S. Gorbunov, Y. Zhang, J.-M. Pei** Role of Bradykinin in the Mechanism of Ischemic Preconditioning of the Heart. Prospects of Bradykinin Application in Cardiosurgical Praxis **188**
- I.A. Hlopina, E.N. Shatsova, V.V. Lupachev, A.N. Plakuev, A.V. Chernozomova, R.V. Koubassov** Characteristics of Left Ventricular Diastolic Function in Patients before and after Coronary Artery Bypass Grafting **196**

## PEDIATRICS: CURRENT ISSUES

- G.V. Volynets, N.N. Evlyukhina, A.V. Filin, A.S. Potapov, I.V. Dvoryakovskiy, G.M. Dvoryakovskaya, A.N. Surkov, A.A. Shavrov, N.L. Pakhomovskaya, T.A. Skvortsova** The Relationship of the Degree of Impairment of the Structure and Function of the Liver with its Chronic Illnesses in Children **203**
- V.R. Kuchma, E.A. Tkachuk** Hygienic Assessment of Educational Texts: Methodical Approaches and Evaluation of Difficulties for Children of Secondary Textbooks **214**
- A.A. Lebedenko, O.E. Semernik** Features of Autonomic Response in Children with Bronchial Asthma in the Period of Exacerbation **222**
- E.V. Boitsova, M.A. Belyashova, D.Yu. Ovsyannikov** Modern Views on Children's Interstitial Lung Disease **227**

## SCIENTIFIC REPORTS

- S.I. Kolesnikov, B.Ya. Vlasov, L.I. Kolesnikova** Hydrogen as a Third Essential Gas Molecule in Living Tissues **237**
- S.V. Michurina, Yu.I. Borodin, S.I. Kolesnikov, I.Yu. Ischenko, V.I. Konenkov** Liver and Its Lymph Region at Benzo[a]pyrene Effects in an Experiment **242**
- G.G. Onishhenko, Je.A. Moskvitina, V.D. Kругlikov, S.V. Titova, O.L. Adamenko, A.S. Vodop'janov, S.O. Vodop'janov** Epidemiological Surveillance of Cholera in Russia During the Period of the Seventh Pandemic **249**
- S.A. Timofeev** Current Concepts of Human Microsporidiosis **257**

## ANNIVERSARIES, CONGRATULATIONS

**264 V.A. Solodkiy**  
**265 R.V. Petrov**

## IN MEMORY OF

**267 L.A. Yakovleva**

# Нозологическая гетерогенность, молекулярная генетика и иммунология аутоиммунного сахарного диабета

Статья посвящена обзору литературных данных, а также анализу результатов собственных исследований, касающихся генетики, молекулярной генетики и иммунологических нарушений при различных формах аутоиммунного сахарного диабета (СД), включая классический СД 1-го типа (СД1), LADA и аутоиммунный полигландулярный синдром 1-го типа (АПС1). При СД1 более 80% пациентов являются носителями одного или двух наиболее сильно предрасполагающих к развитию СД1 гаплотипов: DRB1\*04-DQA1\*0301-DQB1\*0302 и DRB1\*03-DQA1\*0501-DQB1\*0201, обозначаемых как DQ2 и DQ8. Гены HLA могут смоделировать клинические особенности болезни. В русской популяции у детей, заболевших до пятилетнего возраста, достоверно чаще встречались генотипы высокого риска (DQ2/DQ8) и реже — генотипы низкого риска по сравнению с детьми с дебютом СД1 в возрасте старше 10 лет. В семейных шестнадцатилетних исследованиях частота СД1 в группе высокого риска была максимальной, нарастающей по мере увеличения срока наблюдения, а в группах среднего и низкого риска — более низкой и неизменной. Наиболее высокий риск развития СД1, достигающий 90% при десятилетнем наблюдении, определяется наличием HLA-генотипов высокого риска и наличием множества аутоантител, выявляемых с раннего возраста. LADA — гибридная форма аутоиммунного СД, имеющая в своей основе признаки СД1 и СД2. Развитие аутоиммунного процесса против β-клеток может быть обусловлено также единственной генной мутацией (АПС1). Часть случаев СД1, не имеющих предрасполагающих HLA-генов и аутоиммунных маркеров, по мере изучения значимости различных генов и их биологического значения может быть отнесена к новым, пока неизвестным формам СД.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 1-го типа, генетическая предрасположенность, HLA-гаплотипы, генотипы, аутоантитела к β-клеткам. (Для цитирования: Дедов И.И., Шестакова М.В., Кураева Т.Л., Титович Е.В., Никонова Т.В. Нозологическая гетерогенность, молекулярная генетика и иммунология аутоиммунного сахарного диабета. Вестник РАМН. 2015; 70 (2): 132–138. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1305)

## Введение

В общей структуре сахарного диабета на долю сахарного диабета 1-го типа (СД1) приходится до 8–10%, 2-го типа (СД2) — 90–92%. Однако у части пациентов с клинической картиной СД2 в дебюте дальнейшее течение заболевания разительно отличается от классической формы СД2.

СД1 — многофакторное полигенное аутоиммунное заболевание, развивающееся вследствие поражения β-клеток островков Лангерганса островково-реактивными Т клетками. На полигенную природу классического СД1 указывает отмеченный всеми исследователями низкий уровень семейного риска, не совместимый ни с одной из гипотез моногенного наследования без привлечения дополнительного предположения о неполной пенетрантности гена, что формально совпадает с полигенной ги-

I.I. Dedov<sup>1,2</sup>, M.V. Shestakova<sup>1,2</sup>, T.L. Kuraeva<sup>1,2</sup>, E.V. Titovich<sup>1</sup>, T.V. Nikonova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation

## Nozological Heterogeneity, Molecular Genetics and Immunology of Autoimmune Diabetes Mellitus

Article is devoted to the review of literature data, and also the analysis of results of own researches concerning genetics, molecular genetics and immunological violations at various forms of the autoimmune diabetes (DM) including classical T1DM, LADA type and an autoimmune polyglandular syndrome of 1 type (APS1). In case of T1DM more than 80% of patients are carriers of one or two strongest predisposing haplotypes: DRB1\*04-DQA1\*0301-DQB1\*0302 and DRB1\*03-DQA1\*0501-DQB1\*0201 designated as DQ2 and DQ8. HLA genes can model a clinical features of disease. In Russian population, the children with diabetes manifestation up to 5-year age has significantly often high risk genotypes (DQ2/DQ8) and significantly less the low risk genotypes in comparison with children, who had manifestation of T1DM in 10 years and later. The long-term 16-years family studies showed the maximum frequency of T1DM in high risk group, constantly accruing in process of increase in term of supervision, and in groups of an average and low risk lower and invariable. The highest risk of T1DM manifestation, reaching 90% at 10 years of supervision is defined by existence of HLA high risk genotypes and many antibodies, revealed from early age. LADA — the hybrid form of autoimmune DM having signs of T1DM and T2DM in the basis. The development of autoimmune process against β-cells can be caused by only gene mutation (APS1). The part of T1DM cases which doesn't have the contributing HLA genes and autoimmune markers in process of studying of the importance of various genes and their biological value can be attributed to new, yet unknown forms of DM.

**Key words:** type 1 diabetes, genetic susceptibility, HLA-haplotypes, henotypes, autoantibodies to beta cells, LADA.

(For citation: Dedov I.I., Shestakova M.V., Kuraeva T.L., Titovich E.V., Nikonova T.V. Nozological Heterogeneity, Molecular Genetics and Immunology of Autoimmune Diabetes Mellitus. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 70 (2): 132–138. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1305)



потезой [1, 2]. Аутоиммунный диабет характеризуется клинической гетерогенностью с различной скоростью прогрессирования процесса, что проявляется возрастом манифестации, наличием особой формы диабета, так называемого латентного аутоиммунного диабета взрослых (latent autoimmune diabetes of adults, LADA), для которого характерно медленное снижение секреторной функции, остаточная секреция инсулина сохраняется долгие годы. Кроме того, наличие аутоиммунного полигландулярного синдрома 1-го типа, где СД — часть полиморфной аутоиммунной патологии, свидетельствует о том, что развитие аутоиммунного процесса против островковых клеток может быть обусловлено единственной генной мутацией.

Несмотря на то, что существование генетического контроля с вовлечением сильного наследственного компонента в развитии заболевания не отрицается, проблема сложна из-за разнообразия и относительно низкой пенетрантности предрасполагающих генов, а также наличия защищающих генов. Не исключено также, что у отдельных групп пациентов патофизиология и, следовательно, генетика будут явно отличаться от таковых у большей части других пациентов [3].

Поиск предрасполагающих генов вначале происходил через тестирование генов-кандидатов, а также путем использования подхода, основанного на анализе распределения генов в ядерных семьях (семьях, имеющих одного или нескольких больных детей с СД 1-го типа). Именно при использовании этого подхода был обнаружен набор генов основного кандидата (гены HLA) [4, 5], фактически значительно раньше, чем была расшифрована функция молекул HLA осуществлять презентацию антигена Т клеткам. Всего было найдено более 20 областей генома, ассоциированных с развитием СД1. В дальнейшем прорыв в молекулярной генетике СД1 произошел благодаря разработке нового типа геномного поиска — систематического скрининга генома с использованием полиморфных маркеров.

Иммунологические исследования на доклинических стадиях развития заболевания позволили не только ответить на ряд вопросов, касающихся патогенетических механизмов развития аутоиммунного диабета в комплексе с генетическими маркерами, но и прогнозировать развитие клинической стадии болезни, разработать методы дифференциальной диагностики СД1 с другими типами диабета. В настоящее время выделяют следующие виды аутоантител (АТ): ICA — островково-клеточные цитоплазматические АТ, которые коррелируют с высоким генетическим риском; IAA (АТ к инсулину) — чувствительный показатель развития диабета в возрасте до 5 лет; GADA и IA-2A (АТ к глутаматдекарбоксилазе и тирозинфосфатазе) являются маркерами быстрого прогрессирования процесса до клинического СД. Эти АТ появляются за несколько лет до манифестации заболевания и определяются с частотой от 50 до 90% в дебюте СД1 против 1–4% в популяции. В 2007 г. Wenzlauer и соавт. впервые были описаны новые АТ к еще одному антигену β-клеток — транспортеру цинка 8 — Zn8T. По предварительным данным, эти АТ могут обнаруживаться у 26% больных СД1, негативных по другим видам АТ [6].

### Семейный риск развития СД1

СД1 относят к заболеваниям с наследственной предрасположенностью с относительно высокой степенью семейной концентрации: риск возникновения диабета составляет в среднем 7% для родных братьев и сестер (сиссов) и 6% — для ребенка, один из родителей которого

болен диабетом [5]. Большинство случаев СД1 развивается спорадически. В общей популяции риск развития СД1 составляет 0,2–0,4%. По нашим данным, в каждой конкретной семье риск развития заболевания зависит от числа больных и здоровых родственников и возраста манифестации диабета у пробанда. При наличии СД у одного члена семьи 1-й степени родства (родители, братья, сестры) риск для ребенка в среднем составляет 4%. При наличии одного больного родителя и одного больного ребенка либо двух больных детей риск для следующего ребенка повышается уже до 10–12%. Риск для детей, имеющих двух больных СД1 родителей, составляет 34%, а если в этой семье заболевает еще и ребенок, то риск для другого повышается уже до 40%. Кроме того, риск развития диабета повышается по мере снижения возраста манифестации этого заболевания у пробанда: при манифестации СД1 в возрасте 20–40 лет риск для сиссов составляет 1,2%, в возрасте до 20 лет — 6,4%, при этом в возрасте до 10 лет риск возрастает до 8,5% [7, 8].

Интересное наблюдение было сделано относительно различного риска развития диабета для потомства, когда СД1 больны мать или отец, особенно если заболевание у них развилось в возрасте до 11 лет. Оказалось, что риск для потомков отцов с СД1 в 2–4 раза выше, чем для потомков матерей с СД1 [9]. Никакого объяснения этому различию, которое могло коснуться изменений в иммунной системе зародыша под влиянием материнского островкового реактивного иммунного ответа, до сих пор не представлено.

Конкордантность по СД1 составляет приблизительно 35–40% у идентичных близнецов [10], но пенетрантность генетических факторов, оцененных от нормальной конкордантности идентичных близнецов, вероятно, меньше 40%, поскольку близнецы имеют большее число одинаковых факторов внешней среды, чем остальные люди, а также существенный процент близнецов, несущих целый набор предрасположения генов, устойчивы к заболеванию.

Многофакторная модель наследования предполагает, что развитие заболевания определяется совокупным эффектом генетических и средовых факторов. Их соотношение может иметь количественное выражение в виде показателя наследуемости, рассчитываемого по методу Смита [11], величина которого зависит от частоты повторных случаев заболевания в семьях и кумулятивного риска развития болезни в популяции. По нашим данным, коэффициент наследуемости для СД1, возникшего в возрасте до 40 лет, составляет 0,8, т.е. развитие заболевания на 80% определяется генетическими факторами [12].

### Молекулярно-генетические маркеры СД1

**Гены HLA.** Хотя большое число генов могут быть ответственны за развитие СД1 [10], более половины генетических рисков обусловлено полиморфными генами HLA, расположенными на коротком плече хромосомы 6 (6p21). Эта оценка основана на исследованиях риска заболевания среди сиссов в зависимости от их HLA-идентичности: 1% — для полностью HLA-различных сиссов, 3–5% — для полуидентичных сиссов (имеющих только один общий гаплотип), 16–18% — для полностью HLA-идентичных сиссов [5, 13]. Полагая, что вклад генетических факторов в риск развития СД1 составляет более 50%, полный вклад полиморфных аллелей локуса HLA может быть оценен в более, чем 25%. Выдающаяся роль HLA как фактора риска СД1 делает HLA-типирование наиболее информативным параметром распознавания людей с повышенным риском развития заболевания.

Многочисленные мировые исследования среди этнических групп с применением высокотехнологичных методов продемонстрировали, что доминирующее влияние на риск развития СД1 имеют гены *HLA-DR* и *HLA-DQ*, которые усиливают взаимное влияние [14–16].

В европейских популяциях, включая российскую, 2 гаплотипа сильно предрасполагают к развитию СД1: *DRB1\*04-DQA1\*0301-DQB1\*0302* и *DRB1\*03-DQA1\*0501-DQB1\*0201*, обозначаемые как *DQ2* и *DQ8*. Больше 80% пациентов являются носителями одного или обоих гаплотипов. Их влияние на риск развития СД1 синергическое для носителей *DR3/4* (относительный риск, OR, 15–25) [17]. По нашим данным, в российской популяции их OR составляет 2,7 для гаплотипа *DQ2* и 4,7 — для *DQ8*. Некоторые другие гаплотипы в русской популяции (*DRB1\*4-DQA1\*301-DQB1\*304, 16-DQA1\*102-DQB1\*502/4, DRB1\*1-DQA1\*101-DQB1\*501*) также положительно ассоциируются с СД1 (OR 4; 2,4; 1,9, соответственно) [18]. Важно, что полиморфизм генов *HLA* может также иметь выраженный защитный эффект. У людей — носителей гаплотипа *DRB1\*15-DQA1\*0102/BI\*0602* имеет место шестикратное снижение риска развития СД1 по сравнению со среднепопуляционным риском. Эта защита является доминирующей, т.е. ее эффект проявляется даже при наличии гаплотипов *DR3* или *DR4* на другой хромосоме. В русской популяции было выделено 3 защитных гаплотипа [*DRB1\*15-DQA1\*102-DQB1\*602/8* (OR 0,16); *DRB1\*11-DQA1\*501-DQB1\*301* (OR 0,14); *DRB1\*13-DQA1\*103-DQB1\*602/8* (OR 0,08)], характерных и для европейских популяций [14].

Гены *HLA* могут также смоделировать клинические особенности болезни, такие как возраст начала болезни или исход активного клеточного аутоиммунитета. Так, комбинация гаплотипов *DR3* и *DR4* не только настоятельно предрасполагает к развитию СД1, но также ускоряет начало болезни, т.е. встречается намного чаще среди пациентов с началом СД1 в раннем детстве [19]. По нашим данным, в русской популяции генотипы высокого риска (*DQ2/DQ8*) достоверно чаще встречались у детей, заболевших до пятилетнего возраста (33%), по сравнению с детьми, у которых СД1 манифестировал в возрасте старше 10 лет (23%;  $p=0,05$ ). Напротив, генотипы низкого риска у детей, заболевших до 5 лет, обнаруживали достоверно реже по сравнению с заболевшими после 10 лет:  $t_5$  и 13%, соответственно ( $p < 0,05$ ). Частота носительства генотипов среднего риска не различалась (62 и 65%, соответственно;  $p > 0,05$ ). Это согласуется с большой наследственной отягощенностью по СД, развившемуся у детей младшего возраста, что свидетельствует о роли генетических факторов в существовании клинического полиморфизма СД1 [20].

### Исследование СД1 в ядерных семьях

Наши шестнадцатилетние проспективные исследования в ядерных семьях (семьи, имеющие одного или нескольких больных СД1) больных СД1 проведены на 215 здоровых сибсах, которые по носительству *HLA*-генотипов были разделены на 3 группы генетического риска: высокий (*DQ2/DQ8*), средний (*DQ2/X; DQ8/X*), низкий (*X/X*), где *X* — любой не-*DQ2, DQ8*-гаплотип [21]. В среднем манифестация заболевания произошла в 8,4% случаев. Обращает на себя внимание постоянно нарастающая по мере увеличения срока наблюдения максимальная частота развития СД в группе высокого риска (13; 19; 21% через 5; 10; 15 лет наблюдения, соответственно) и практически не изменяющаяся в группах среднего и низкого риска (7; 9; 9 и 3,2; 2,6; 2,6%, соответственно). До

90% заболевших сибсов были носителями гаплотипов высокого риска. У остальных 10% генотип был представлен нейтральными гаплотипами. В 90% случаях выявлялись *ICA*, и/или *GADA*, и/или *IA-2*, и/или *IAA* в высоком титре. Возможно, у некоторых пациентов, не имеющих *DQ8* и *DQ2*-гаплотипов без признаков островково-клеточного специфического аутоиммунитета, аутоиммунная природа СД1 может быть подвергнута сомнению [3].

В настоящее время известно, что наиболее высокий риск развития СД1, достигающий 90% в течение десятилетнего периода наблюдения, определяется наличием высокопредрасполагающих *HLA*-гаплотипов и генотипов и присутствием множественных аутоантител, выявляемых у детей раннего возраста (рис. 1) [21, 22].

В нашем исследовании АТ достоверно чаще определялись у заболевших сибсов до манифестации, чем у больных СД1 в начальный период, и у сибсов, не развив-

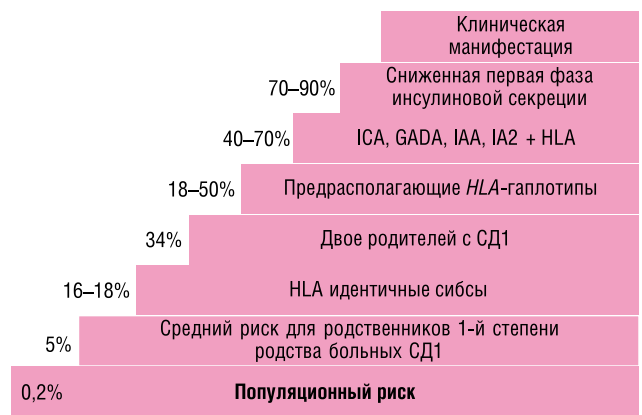


Рис. 1. Индивидуальные риски развития сахарного диабета 1-го типа.

ших заболевание в течение всего периода наблюдения: 90 против 48,6 и 31%, соответственно;  $p < 0,05$  (рис. 2) [14]. Полученные данные свидетельствуют об аутоиммунном процессе, происходящем более активно на доклинической стадии диабета, и подтверждают важность иммунологических маркеров в прогнозировании СД1.

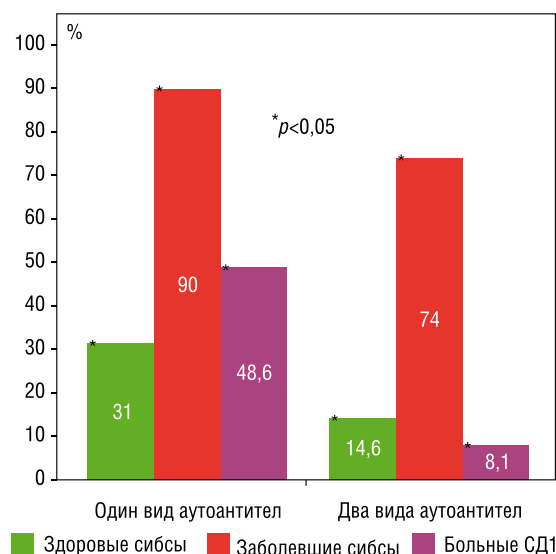


Рис. 2. Риск развития СД1 у родственников 1-й степени родства в зависимости от количества выявляемых аутоантител.

### Другие локусы, ассоциированные с СД1

Как обсуждалось выше, гены главного комплекса гистосовместимости составляют только половину полной генетической предрасположенности к СД1. Поиск всех остальных генов производился путем систематического сканирования генома на основе анализа пораженных sibсовых пар. В табл. приведены современные данные по наиболее важным и подтвержденным в независимых исследованиях локусам предрасположенности к СД1, ассоциация с которыми была подтверждена в русской популяции и в ряде этносов, проживающих на территории Российской Федерации [23–25].

### LADA

Исторически СД1 в значительной степени рассматривался как заболевание детей и подростков, однако это мнение изменилось за последнее десятилетие, так что возраст симптоматического начала болезни больше не считается ограничительным фактором для определения типа СД. Большинство пациентов с дебютом заболевания во взрослом возрасте страдают СД2. Однако СД1 может развиваться в любом возрасте, и встречается у взрослых пациентов значительно чаще, чем считалось ранее. До сих пор отсутствуют надежные маркеры для определения типа сахарного диабета, и диагностируемая у взрослых пациентов патология часто расценивается как СД2. Однако исследователи обнаружили, что у ряда пациентов с клинической картиной СД2 имеются положительные титры аутоантител к компонентам островковых клеток. Наличие антител связано с фенотипом, в т.ч. молодым возрастом дебюта, меньшей секрецией инсулина, быстрым прогрессированием к инсулинозависимости. У пациентов с положительными титрами аутоантител меньше данных за наличие метаболического синдрома, чем у пациентов с отрицательным титром. Эти особенности проявляются также в зависимости от величины титра антител.

LADA — термин, описывающий пациентов с фенотипом СД2, у которых, несмотря на наличие аутоантител при диагностике заболевания, дисфункция β-клеток развивается медленно [26].

LADA является распространенной формой СД, во многих регионах частота ее встречаемости превышает таковую для классического СД1. Для LADA не существует унифицированных критериев, однако 3 признака упоминаются достаточно часто: положительные антитела к глутаматдекарбоксилазе, возраст дебюта старше 35 лет, отсутствие потребности в инсулинотерапии в течение 6–12 мес после постановки диагноза (рис. 3).

Распространенность GADA у пациентов с клиническим дебютом СД2 различается между регионами и этническими группами. Около 5–14% пациентов в Европе, Северной Америке и Азии имеют панкреатические ауто-

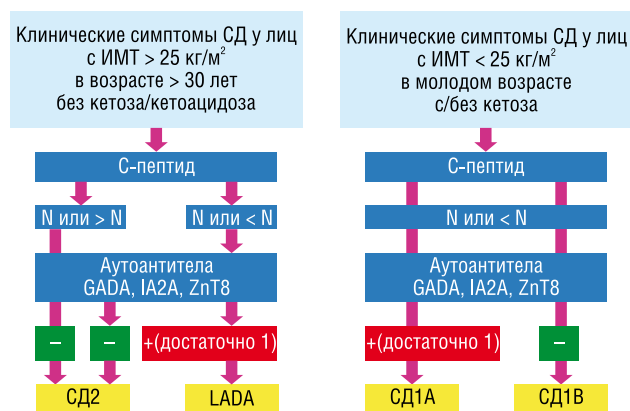


Рис. 3. Алгоритм дифференциальной диагностики сахарного диабета.

Примечание. ИМТ — индекс массы тела, N — норма.

антитела. GADA обнаружены у 541 (8,8%) из 6156 пациентов в Европейском многоцентровом исследовании Action LADA 7 [27] по сравнению с 287 (5,9%) из 4786 участников общенационального исследования LADA в Китае [28]. Другие виды аутоантител выявлены лишь у 1–2% пациентов. Из всех пациентов с положительными AT 90% имели GADA, 18–24% — IA-2 или ATZnT8. В отличие от СД1, при котором циркулирующие AT часто исчезают после диагностики, распространенность GADA у пациентов с СД, первоначально диагностированным как заболевание 2-го типа, не зависит от длительности диабета. Тем не менее, эта точка зрения была оспорена в норвежском исследовании Hunt, в котором 41% пациентов с LADA стали антитело-отрицательными в течение десятилетнего периода наблюдения [29]. Наличие аутоантител также зависит от возраста: 14–34% пациентов с СД2, диагностированным в возрасте 25–45 лет, имели GADA по сравнению с 7–9% пациентов, которым диагноз был поставлен позже.

В исследованиях сотрудников Эндокринологического научного центра подтверждена ассоциация HLA класса II с развитием как LADA, так и СД1. В группе взрослых пациентов с СД1 частота генотипов с двумя predisposing гаплотипами оказалась значительно выше (55,7%), чем с одним predisposing гаплотипом в сочетании с протективным или нейтральным (31,3%). Напротив, в группе пациентов с LADA частота генотипов с двумя predisposing гаплотипами была значительно ниже (28,7%;  $p < 0,001$ ), чем с одним predisposing гаплотипом в сочетании с протективным или нейтральным (51,0%;  $p < 0,001$ ) [30]. Вероятно, именно наличие только одного predisposing гаплотипа в сочетании с протективным или нейтральным в генотипе больных LADA обуславливает менее агрессивное течение заболевания и может являться одной из характеристик LADA [31].

Таблица. Наиболее значимые после HLA локусы предрасположенности к сахарному диабету 1-го типа

Ген	Гетерозиготы (OR)	Гомозиготы (OR)	Предполагаемый механизм
INS	2,68	3,27	Развитие центральной толерантности к инсулину
PTPN22	1,95	4,16	Регуляция передачи сигналов от рецепторов Т лимфоцитов
CTLA4	1,14	1,5	Регуляция активации Т лимфоцитов
IL2RA	1,87	3,89	Регуляция эффекта воздействия интерлейкина 2 на регуляторные Т лимфоциты
PTPN2	1,33	1,61	Тирозинфосфатаза; роль, аналогичная PTPN22



Изучение ассоциации полиморфного маркера *23HphI* гена *INS* у пациентов с заболеванием LADA в сравнении с классическим СД1 показало, что данный маркер достоверно ассоциирован как с СД1, так и с LADA. Обнаружена ассоциация полиморфного маркера *R620W* гена *PTPN22* с развитием СД1, однако его ассоциации с развитием LADA в нашей выборке не установлено. Поскольку исследование было проведено на малой выборке больных, полученные данные требуют дальнейшего анализа [30].

Деструкция β-клеток при СД1 опосредована клеточным иммунным ответом, что доказывается фактами обнаружения эффекторных Т-клеток в островках при инсулите; замедления прогрессирования заболевания при использовании иммуносупрессивных препаратов, направленных непосредственно против Т-клеток; определения аутореактивных Т-клеток в крови у пациентов в дебюте СД1 [32]. В нормальных условиях защитные механизмы предотвращают избыточную активацию клеток иммунной системы. К фундаментальным защитным механизмам относится иммунологическая толерантность. У здоровых людей периферическая ауто толерантность поддерживается с помощью ряда регуляторных механизмов, включая популяцию естественных регуляторных Т-клеток ( $T_{reg}$ ). Способность  $T_{reg}$  подавлять аутоиммунный ответ непосредственно зависит от экспрессии гена *FOXP3* [33]. *FOXP3* — это ген, кодирующий транскрипционный фактор, который обладает ДНК-связывающим доменом wingedhelix, или forkheadbox (FOX) [34]. *FoxP3* регулирует транскрипцию генов, ответственных за дифференцировку Т-клеток, экспрессию цитокинов и других факторов, участвующих в супрессии иммунного ответа.

В нашем исследовании показано, что в группе больных СД1, как с впервые выявленным, так и при продолжительном течении заболевания, число регуляторных Т-лимфоцитов не отличалось от такового в группе контроля ( $p > 0,05$ ) [35], однако их функциональная активность (интенсивность экспрессии гена *FOXP3*) была достоверно ниже, чем в контроле [36]. Снижение экспрессии гена *FOXP3* у пациентов с LADA, в отличие от СД1, наблюдалось через 6–12 мес от начала заболевания, при этом число  $T_{reg}$  нормализовалось и в дальнейшем не отличалось от контрольных значений. В период от 1 до 5 лет вновь наблюдалась нормализация уровня экспрессии гена *FOXP3*, а при длительности болезни более 5 лет — достоверное его снижение [31, 37]. Нарастание процентного содержания  $T_{reg}$  в период до 6 мес может отражать их регулируемую роль при подавлении аутоиммунного ответа. Возможно, увеличение числа  $T_{reg}$  компенсирует их функциональный дефицит. Таким образом, при заболевании LADA функциональный дефицит  $T_{reg}$  возникает отсроченно, что, очевидно, обуславливает медленное прогрессирование аутоиммунной деструкции β-клеток.

Прогрессирование индуцированной аутоиммунной реакции при длительности заболевания от 1 до 5 лет по неизвестным пока причинам замедляется, несмотря на наличие антител. Возможно, индукция аутоиммунного процесса происходит на фоне имеющейся периферической инсулинорезистентности, характерной для больных LADA [38].

Низкая интенсивность экспрессии гена *FOXP3* (несмотря на отсутствие существенной разницы в содержании  $T_{reg}$  в крови), в сравнении с контролем, при любой продолжительности СД1 говорит о потере иммунологической толерантности и дефекте подавления аутоиммунного ответа при любом сроке заболевания.

LADA, в свою очередь, является гетерогенным заболеванием и подразделяется на подтипы LADA1 и LADA2. LADA1 отличается высоким титром антител, характеристиками, близкими к СД1, относительно быстрым развитием потребности в инсулине. При LADA2 титр антител низкий, потребность в инсулине развивается медленно, остаточная секреция сохраняется долгие годы (рис. 4).

В настоящее время все больше данных свидетельствует о том, что LADA является не только гетерогенной, но и гибридной формой СД, т.к. при LADA встречаются гены, характерные для 1-го и 2-го типа диабета. В частности, известно, что один из вариантов гена *TCF7L2* тесно связан с СД2, однако его частота также повышена у пациентов с LADA [39].

#### Аутоиммунный полигландулярный синдром 1-го типа

Чрезвычайный интерес представляет существование моногенной формы аутоиммунного СД. Аутоиммунный полигландулярный синдром 1-го типа (АПС1) — редкое аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся сочетанием гипопаратиреоза, кожно-слизистого кандидоза, первично-надпочечниковой недостаточности и рядом других аутоиммунных состояний (сахарный диабет, аутоиммунный гепатит, витилиго, алопеция и пр.) [40]. С открытием в 1997 г. гена аутоиммунного регулятора (*AIRE*), ответственного за развитие АПС1, впервые была установлена моногенная природа аутоиммунного заболевания. Предполагается, что *AIRE* повышает регуляцию транскрипции органспецифических аутоантигенов в медуллярных тимус-эпителиальных клетках, что играет свою роль в негативной селекции органспецифических клеток тимуса [41]. Эти данные позволяют высказать предположение, что развитие аутоиммунного диабета в отсутствие ассоциации с генами главного комплекса гистосовместимости у некоторых больных может быть обусловлено не только участием других, отличных от *HLA*, генов, но и иметь моногенную природу с мутациями в неизвестных современной науке генах.

136

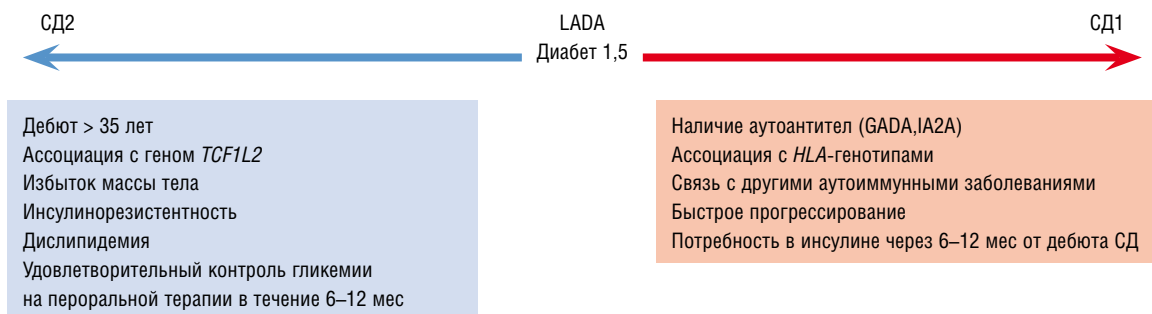


Рис. 4. LADA — гибридная форма аутоиммунного СД.

## Заключение

Важность детального знания генетики СД1 и развивающихся нарушений аутоиммунитета очевидна как на уровне понимания патофизиологических механизмов развития различных его форм, так и при прогнозировании заболевания — шага, необходимого для проектирования новых методов интервенционного вмешательства. Развитие генетической технологии и знания человеческого генома позволят быстро получить надежные новые данные, и тогда будет еще более важно оценить относительную значимость различных генов и их биологическое значение, что является наиболее трудной задачей.

## Источник финансирования

Финансирование исследования осуществлялось в рамках реализации НИР, утвержденной ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России.

## Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

## ЛИТЕРАТУРА

- Сахарный диабет: диагностика, лечение, профилактика. Под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. М.: МИА. 2011. 801 с.
- Алексеев Л.П., Дедов И.И., Хаитов Р.М., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю., Петеркова В.А., Кураева Т.Л., Абрамов Д.Д. Иммуногенетика сахарного диабета 1 типа — от фундаментальных исследований к клинике. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2012; 1: 75–80.
- Akesson K., Carlsson A., Ivarsson S.A., Johansson C., Weidby B.M., Ludvigsson J., Gustavsson B., Lernmark A., Kockum I. The non-inherited maternal HLA haplotype affects the risk for type 1 diabetes. *Int. J. Immunogenet.* 2009; 36 (1): 1–8. Doi: 10.1111/j.1744-313X.2008.00802.x.
- Nerup J., Platz P., Andersen O.O., Christy M., Lyngsoe J., Poulsen J.E., Ryder L.P., Nielsen L.S., Thomssen M., Svejgaard A. HL-A antigens and diabetes mellitus. *Lancet*. 1974; ii: 864–866.
- Кураева Т.Л., Титович Е.В., Прокофьев С.А., Петеркова В.А. Генетические и иммунологические технологии определения риска развития сахарного диабета 1 типа. Перспективы предупреждения болезни. Пос. для врачей. Под ред. И.И. Дедова. М. 2011. 24 с.
- Morgan M.P., Omenn G.S., Pietropaolo M. Immunology and Genetics of Type 1 Diabetes. *Mount Sinai J. Med.* 2008; 75: 314–327.
- Дедов И.И., Кураева Т.Л., Петеркова В.А., Носиков В.В., Сергеев А.С. Медико-генетическое консультирование в семьях больных сахарным диабетом 1 типа. Метод. рекомендац. М. 2000. 35 с.
- Chern M.M., Anderson V.E., Barbosa J. Empirical Risk for Insulin — dependent Diabetes (IDD) in Sibs. *Diabetes*. 1982; 31: 1115–1118.
- Harjutsalo V., Lammi N., Karvonen M., Groop P. Age at onset of type 1 diabetes in parents and recurrence risk in offspring. *Diabetes*. 2010; 59: 210–214.
- Atkinson M.A. The pathogenesis and natural history of type 1 diabetes. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012; 2 (11), pii: a007641. Doi: 10.1101/cshperspect.a007641.
- Smith Ch. Statistical resolution of genetic heterogeneity in familial disease. *Ann. Hum. Genet.* 1976; 39 (3): 281–291.
- Дедов И.И., Петеркова В.А., Кураева Т.Л., Титович Е.В., Зильберман Л.И. Прогнозирование и профилактика сахарного диабета в детском возрасте. Пос. для врачей. М.: *Институт проблем управления здравоохранением*. 2009. 55 с.
- Noble J.A., Valdes A.M., Cook M., Klitz W., Tomson G., Erlich N.A. The role of HLA-class II genes in insulin-dependent diabetes mellitus: Molecular analysis of 180 Caucasian, Multiplex families. *Am. J. Hum. Genet.* 1996; 59: 1134–1148.
- Morgan M.P., Omenn G.S., Pietropaolo M. Immunology and Genetics of Type 1 Diabetes. *Mount Sinai J. Med.* 2008; 75: 314–327.
- Титович Е.В., Кураева Т.Л., Данилова Г.И., Алексеев Л.П., Болдырева М.Н., Никитин А.Н., Прокофьев С.А., Зильберман Л.И., Цитлидзе Н.М., Носиков В.В., Дедов И.И. Изучение ассоциации сахарного диабета 1 типа с полиморфными аллелями генов HLA II класса в якутской и русской популяциях. *Сахарный диабет*. 2009; 3: 28–33.
- Зильберман Л.И., Титович Е.В., Кураева Т.Л., Дедов И.И., Прокофьев С.А. The association CTLA-4 single nucleotide polymorphisms (-318C/T and 49A/G) and HLA-haplotypes in type 1 diabetes mellitus in Moscow population. Abstracts for the 35th Annual Meeting of the International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD). *Ljubljana, Slovenia*. 2009.
- Thomson G. HLA DR antigens and susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. *Am. J. Hum. Genet.* 1984; 36: 1309–1317.
- Дедов И.И., Кураева Т.Л., Титович Е.В. Медико-генетическое консультирование и профилактика сахарного диабета 1 типа. Сахарный диабет: диагностика, лечение, профилактика. Под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. М.: МИА. 2011. С. 281–307.
- Patterson C.C., Dahlquist G.G., Gyurus E., Green A., Soltesz G. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–2003: a multicentre prospective registration study. *Lancet*. 2009; 373: 2027–2033.
- Титович Е.В., Кураева Т.Л., Иванова О.Н., Степанова С.М., Петеркова В.А., Дедов И.И. Прогнозирование сахарного диабета 1 типа в семьях больных (проспективное 16-летнее наблюдение). Акцент на будущее. *Сахарный диабет*. 2014; 3: 83–89.
- Atkinson M.A. The pathogenesis and natural history of type 1 diabetes. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012. Doi: 10.1101/cshperspect.a007641, 1–18.
- Дедов И.И., Кураева Т.Л., Петеркова В.А. Сахарный диабет у детей и подростков. М.: *ГЭОТАР-Медиа*. 2013. 271 с.
- Иванова О.Н., Прокофьев С.А., Смирнова Н.Б., Тишина Ю.В., Бардымова Т.П., Данилова Г.И., Коваленко Т.В., Титович Е.В., Кураева Т.Л., Петеркова В.А., Дедов И.И. Полиморфные маркеры гена RPTN22: ассоциация с сахарным диабетом 1-го типа в ряде популяций РФ, межпопуляционное сравнение частот. *Сахарный диабет*. 2013; 2: 4–11.
- Копылова О.И., Кураева Т.Л., Лаврикова Е.Ю., Титович Е.В., Никитин А.Г., Смирнова Г.Е., Петеркова В.А., Дедов И.И., Носиков В.В. Полиморфные маркеры генов IL2RA и IL2: популяционные различия в ассоциации с сахарным диабетом типа 1. *Сахарный диабет*. 2012; 1: 14–18.
- Копылова О.И., Кураева Т.Л., Лаврикова Е.Ю., Титович Е.В., Никитин А.Г., Смирнова Г.Е., Петеркова В.А., Дедов И.И., Носиков В.В. Ассоциация полиморфного маркера G6230A гена *CTLA4* с сахарным диабетом 1 типа у больных русского происхождения. *Проблемы эндокринологии*. 2012; 4: 14–17.
- Tuomi T., Groop L.C., Zimmet P.Z., Rowley M.J., Knowles W., Mackay I.R. Antibodies to glutamic acid decarboxylase reveal latent autoimmune diabetes mellitus in adults with a non-insulindependent onset of disease. *Diabetes*. 1993; 42: 359–362.
- Hawa M.I., Kolb H., Schloot N. et al. The Action LADA consortium. Adult-onset autoimmune diabetes in Europe is prevalent with

- a broad clinical phenotype: Action LADA 7. *Diabetes Care*. 2013; 36: 908–913.
28. Zhou Z., Xiang Y., Ji L. et al. and the LADA China Study Group. Frequency, immunogenetics, and clinical characteristics of latent autoimmune diabetes in China (LADA China study): a nationwide, multicenter, clinic-based cross-sectional study. *Diabetes*. 2013; 62: 543–550.
  29. Hunt Sorgjerd E.P., Skorpen F., Kvaloy K., Midthjell K., Grill V. Time dynamics of autoantibodies are coupled to phenotypes and add to the heterogeneity of autoimmune diabetes in adults: the HUNT study, Norway. *Diabetologia*. 2012; 55: 1310–1318.
  30. Никонова Т.В. Сахарный диабет 1 типа и латентный аутоиммунный диабет взрослых (LADA): клинические, иммуно-генетические и гормонально-метаболические аспекты. Автореф. дис. ... докт.мед.наук. М. 2011. 42 с.
  31. Никонова Т.В., Апанович П.В., Пекарева Е.В., Горелышева В.А., Прокофьев С.А., Степанова С.М., Тишина Ю.В., Карпухин А.В. Иммуногенетические особенности (LADA). *Сахарный диабет*. 2011; 1: 28–35.
  32. Lawson J.M., Tremble J., Dayan C., Beyan H., Leslie R.D.G., Peakman M., Tree T.I.M. Increased resistance to CD4+CD25hi regulatory T cell-mediated suppression in patients with type 1 diabetes. *Clin. Exp. Immunol.* 2008; 154: 353–359.
  33. Zheng Y., Rudenski A.Y. FoxP3 in control of the regulatory T cell lineage. *Nat. Immunol.* 2007; 8: 457–462.
  34. Ziegler S.F. FOXP3: of mice and men. *Ann. Rev. Immunol.* 2006; 24: 209–226.
  35. Никонова Т.В., Апанович П.В., Пекарева Е.В., Карпухин А.В., Дедов И.И. Роль регуляторных CD4+CD25+highT-лимфоцитов и их функциональной активности в развитии и прогрессировании сахарного диабета 1 типа. *Сахарный диабет*. 2010; 3: 25–29.
  36. Apanovich P.V., Nikonova T.V., Apanovich N.V., Shestakova M.V., Karpukhin A.V. The expression of FoxP3, IFN $\gamma$  and IL4 on different stages of type 1 diabetes mellitus. *Eur. J. Hum. Gen.* 2008; 16 (Suppl. 2); 694.
  37. Nikonova T.V., Pekareva E.V., Gorelysheva V.A., Apanovich P.V., Prokofyev S.A., Dedov I.I. The role of regulatory CD4+CD25+ T-lymphocytes and FoxP3 expression in evolution and progression of type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2010; 53 (Suppl. 1): 181–182.
  38. Nikonova T.V., Pekareva E.V., Smirnova O.M., Dedov I.I. Metabolic syndrome in adult patients with type 1 diabetes mellitus. *J. Diabetes*. 2011; 3 (Suppl. 1): 151–152.
  39. Tuomi T., Santoro N., Caprio S., Cai M., Weng J.L. The many faces of diabetes: a disease with increasing heterogeneity. *Lancet*. 2014; 383: 1084–1094.
  40. Orlova E.M., Bukina A.M., Kuznetsova E.S., Kareva M.A., Zakharova E.U., Peterkova V.A., Dedov I.I. Autoimmune Polyglandular Syndrome Type 1 in Russian Patients: Clinical Variants and Autoimmune Regulator Mutations. *Horm. Res. Paediatr.* 2010; 73: 449–457.
  41. Anderson M.S., Venanzi E.S., Chen Z., Berzins S.P., Benoist C., Marhis D. The cellular mechanism of Aire control of T cell tolerance. *Immunity*. 2003; 23: 227–239.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Дедов Иван Иванович**, академик РАН, директор Эндокринологического научного центра

**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (495) 500-00-91, **e-mail:** dedov@endocrincentr.ru

**Шестакова Марина Владимировна**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, директор Института диабета Эндокринологического научного центра

**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (499) 124-45-00, **e-mail:** nephro@endocrincentr.ru

**Кураева Тамара Леонидовна**, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, заведующая детским отделением сахарного диабета Института детской эндокринологии Эндокринологического научного центра

**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (495) 668-20-63, **e-mail:** endiab@mail.ru

**Титович Елена Витальевна**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник детского отделения сахарного диабета Института детской эндокринологии Эндокринологического научного центра

**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (499) 124-45-40, **e-mail:** lenatitovich@mail.ru

**Никонова Татьяна Васильевна**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Отделения программного обучения и лечения Эндокринологического научного центра

**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (499) 500-01-44, **e-mail:** tatiana\_nikonova@mail.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70i2.1306

В.Т. Ивашкин<sup>1</sup>, А.Ф. Шептулина<sup>1</sup>, К.Л. Райхельсон<sup>2</sup>, Е.А. Лосик<sup>1</sup>, К.В. Ивашкин<sup>1</sup>, А.В. Охлобыстин<sup>1</sup>,  
Е.К. Баранская<sup>1</sup>, Е.А. Полуэктова<sup>1</sup>, О.С. Шифрин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

<sup>2</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,  
Санкт-Петербург, Российская Федерация

## Аутоиммунные заболевания органов пищеварительной системы

К категории аутоиммунных заболеваний органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) относят заболевания с иммунологическими механизмами развития, этиология которых до настоящего времени остается неизвестной. Это группа относительно редких болезней, однако в последние годы отмечена отчетливая тенденция к росту их частоты и распространенности, что повлекло за собой увеличение числа исследований, посвященных этиологии, патогенезу, а, следовательно, и созданию новых методов диагностики и схем лечения аутоиммунных заболеваний органов ЖКТ. В результате таких работ, к примеру, были получены данные об участии в патогенезе хронических холестатических заболеваний печени ядерных рецепторов, а также об основополагающей роли кишечной микрофлоры в формировании воспалительных заболеваний кишечника. Несмотря на достижения в изучении аутоиммунных заболеваний органов ЖКТ, имеющиеся в настоящее время стратегии терапии остаются малоэффективными и сопряжены с развитием большого числа нежелательных явлений. Нельзя не отметить и тот факт, что многие аутоиммунные заболевания органов ЖКТ являются фоном для развития злокачественных новообразований. Например, у пациентов с первичным склерозирующим холангитом риск возникновения холангиоцеллюлярной карциномы повышен в 160 раз, а у пациентов с целиакией злокачественные новообразования пищевода, тонкой и толстой кишки встречаются в 10–14% случаев. Таким образом, данная группа болезней нуждается в дополнительном изучении с целью создания более точных методов диагностики, позволяющих идентифицировать заболевания на ранних стадиях развития, а также новых более эффективных и безопасных стратегий лечения.

**Ключевые слова:** аутоиммунные заболевания, органы пищеварительной системы, ядерные рецепторы, аутоантитела.

(Для цитирования: Ивашкин В.Т., Шептулина А.Ф., Райхельсон К.Л., Лосик Е.А., Ивашкин К.В., Охлобыстин А.В., Баранская Е.К., Полуэктова Е.А., Шифрин О.С. Аутоиммунные заболевания органов пищеварительной системы. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 139–151. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1306)

139

### Аутоиммунный гастрит

Аутоиммунный гастрит — хроническое воспаление слизистой оболочки тела желудка с аутоиммунным механизмом развития, приводящее к возникновению атрофического гастрита и гипосекреции.

Аутоиммунный гастрит встречается у 5–10% лиц в общей популяции. Пик заболеваемости приходится на возраст старше 60 лет, а соотношение числа заболевших

мужчин и женщин составляет 1:4–5. Для аутоиммунного гастрита, как и для других аутоиммунных болезней органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), характерно сочетание с различными аутоиммунными заболеваниями, а именно, с аутоиммунным тиреоидитом, витилиго, сахарным диабетом 1-го типа [1].

Этиология аутоиммунного гастрита неизвестна. Предполагается значение в развитии этого заболевания генетической предрасположенности, что подтверждается на-

V.T. Ivashkin<sup>1</sup>, A.F. Sheptulina<sup>1</sup>, K.L. Raikhelson<sup>2</sup>, E.A. Losik<sup>1</sup>, K.V. Ivashkin<sup>1</sup>, A.V. Okhlobystin<sup>1</sup>,  
E.K. Baranskaya<sup>1</sup>, E.A. Polouektova<sup>1</sup>, O.S. Shifrin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation

<sup>2</sup> I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Saint-Petersburg, Russian Federation

### Autoimmune Diseases of Digestive System

Autoimmune diseases of digestive system refer to pathological conditions, caused by autoimmune mechanisms, and their etiology remains unknown. This is a group of relatively rare diseases, however, during the last years a marked tendency towards the raise in incidence and prevalence is observed, which led to an increase in number of clinical investigations on etiology, pathogenesis, and, accordingly, development of new diagnostic methods and therapies. Results of such trials shown, for example, that the pathogenesis of chronic cholestatic liver diseases is associated with nuclear receptors function, while the main etiological and pathogenic factor of inflammatory bowel diseases represents gut microbiota. Despite new achievements in autoimmune diseases of digestive system research, therapies are low effective and are accompanied by a huge number of adverse events. The fact that these diseases may lead to malignant tumors is also worth noting. For example, patients with primary sclerosing cholangitis have a 160 times higher risk of cholangiocellular carcinoma, while 10–14% of patients with celiac disease may develop malignancies of esophagus, small and large intestine. Thus, these diseases require further investigation with a purpose of more accurate diagnostic methods for the detection of disease at early stages and new effective and safe therapies development.

**Key words:** autoimmune diseases, digestive system, nuclear receptors, autoantibodies.

(For citation: Ivashkin V.T., Sheptulina A.F., Raikhelson K.L., Losik E.A., Ivashkin K.V., Okhlobystin A.V., Baranskaya E.K., Polouektova E.A., Shifrin O.S. Autoimmune Diseases of Digestive System. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 139–151. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1306)



личием семейных форм аутоиммунного гастрита. Кроме того, нельзя исключить роль инфекции *Helicobacter pylori* в качестве триггерного фактора для инициации аутоиммунного процесса [2].

Аутоиммунный гастрит характеризуется наличием антител к париетальным клеткам желудка и внутреннему фактору, определение титра которых в периферической крови является частью алгоритма диагностики этого заболевания. Кроме того, для оценки состояния слизистой оболочки желудка применяют такие серологические маркеры, как пепсиногены I и II, гастрин-17 [3, 4].

К морфологическим критериям аутоиммунного гастрита на ранних этапах заболевания относят лимфоплазмочитарную инфильтрацию слизистой оболочки тела желудка, в некоторых случаях — с формированием очаговых лимфоидных скоплений, и псевдогипертрофию париетальных клеток. С течением времени развиваются атрофические изменения: уменьшаются число и глубина желез тела желудка, на фоне чего появляются участки кишечной метаплазии (рис. 1) [5, 6].

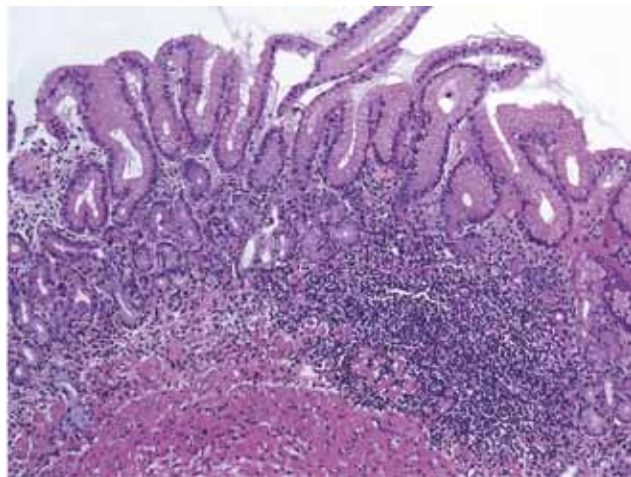


Рис. 1. Аутоиммунный гастрит.

Примечание. Окраска гематоксилином-эозином.

У большинства пациентов с аутоиммунным гастритом ранние стадии заболевания протекают бессимптомно. По мере развития атрофических изменений в слизистой оболочке тела желудка и истощения депо витамина  $B_{12}$  у пациентов появляются клинические признаки пернициозной анемии (гиперхромная макроцитарная анемия) и неврологическая симптоматика (парестезии, атаксия, слабость в конечностях, снижение проприоцептивной и кожной чувствительности, когнитивные нарушения, деменция).

В большинстве случаев диагноз устанавливают только на стадии клинических проявлений, при наличии у пациентов  $B_{12}$ -дефицитной анемии, развитие которой свидетельствует о длительном существовании атрофии слизистой оболочки тела желудка. Возникновение  $B_{12}$ -дефицитной анемии у пожилых пациентов может приводить к декомпенсации сердечно-сосудистых заболеваний, поэтому в зарубежной литературе и по сей день эта анемия носит название злокачественной. Более того, неврологические проявления дефицита витамина  $B_{12}$  значительно снижают качество жизни таких пациентов.

Значительное повышение содержания гастрина на фоне атрофии слизистой оболочки тела желудка ведет к избыточной стимуляции роста энтерохромафиноподобных клеток желудка и развитию карциноида желудка, ко-

торый в 70–80% случаев наблюдают именно у пациентов с аутоиммунным гастритом (рис. 2). Течение карциноида в большинстве случаев благоприятное, бессимптомное и редко приводит к метастазированию.

С другой стороны, пациенты с аутоиммунным гастритом относятся к группе риска развития рака желудка: относительный риск у них в 2–4 раза выше, чем в общей популяции.

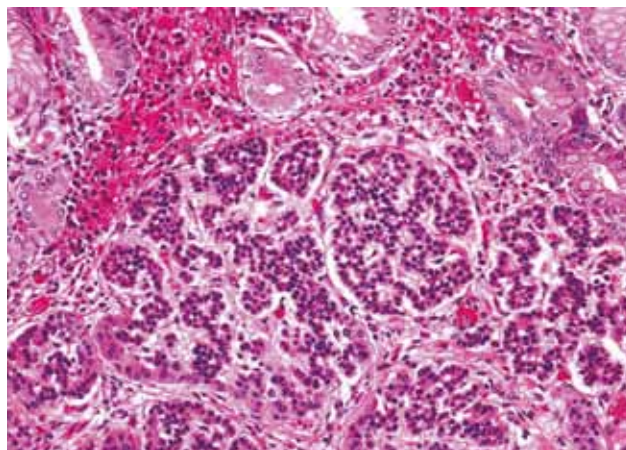


Рис. 2. Карциноид желудка.

Примечание. Скопление нейроэндокринных клеток в собственной пластинке слизистой оболочки на фоне аутоиммунного атрофического гастрита с участками кишечной метаплазии. Окраска гематоксилином-эозином.

В настоящее время этиологического и патогенетического лечения аутоиммунного гастрита не существует. Большое значение придается своевременной диагностике дефицита витамина  $B_{12}$  и профилактике  $B_{12}$ -дефицитной анемии. Кроме того, пациентам с аутоиммунным гастритом показано регулярное выполнение эндоскопического исследования верхних отделов ЖКТ с биопсией слизистой оболочки желудка с целью ранней диагностики рака желудка [7].

### Аутоиммунный панкреатит

Аутоиммунный панкреатит (АИП) — системное воспалительное заболевание с выраженным фиброзом, которое поражает не только поджелудочную железу (ПЖ), но и ряд других органов, включая желчные протоки, слюнные железы, забрюшинную клетчатку, лимфатические узлы. В вовлеченных органах наблюдается лимфоплазмочитарная инфильтрация (клетки дают положительную окраску на  $IgG_4$ ), при этом заболевание успешно поддается лечению стероидными препаратами [8].

Распространенность АИП составляет 0,8 случая на 100 тыс. населения. Больные АИП составляют 5–6% от общего числа всех заболевших хроническим панкреатитом. Мужчины болеют примерно в 2–3 раза чаще женщин; 85% больных АИП — старше 50 лет [9].

Обнаружена связь заболеваемости АИП с наследственными факторами: сцепленность с серотипами HLA DRB1\*0405, DQB1\*0401 и HLA DQβ1-57 [10]. Сывороточные  $IgG_4$  больных АИП связываются с нормальным эпителием протоков ПЖ, желчных протоков, протоков слюнных желез. К потенциальным аутоантигенам относят карбоангидразу, лактоферрин, панкреатический секреторный ингибитор трипсина и трипси-



ногены. Наличие аутоантител против карбоангидразы может объяснять сочетание иммунного поражения органов пищеварения, почек и легких, клетки которых несут на своей поверхности антигены-мишени. Обнаружены антитела к плазминогенсвязывающему белку и UBR2 *H. pylori* [11–13].

В типичном случае заболевание морфологически характеризуется воспалительно-склеротическими изменениями ПЖ без кальцификации/внутрипротоковых конкрементов, редко формируются псевдокисты (рис. 3).

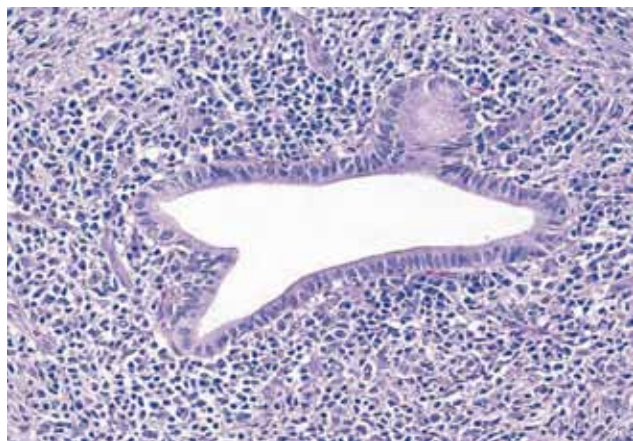


Рис. 3. Аутоиммунный панкреатит.

*Примечание.* Воспалительный инфильтрат, состоящий из лимфоцитов, плазматических клеток, единичных эозинофилов, сконцентрированный вокруг протока поджелудочной железы. Распределение воспалительного инфильтрата при других формах панкреатита имеет более диффузный характер. Отсутствуют белковые хлопья/конкременты, характерные, например, для алкогольного панкреатита. Окраска гематоксилином-эозином.

У пациентов обычно отсутствуют типичные клинические признаки панкреатита, они обращаются к врачу по поводу незначительной боли в животе, общей слабости, желтухи. Такие симптомы, впервые возникшие у пожилого человека (у 1/3 больных заболевание начинается в возрасте после 60 лет) в сочетании с признаками механической желтухи, сахарного диабета, требуют исключения злокачественной опухоли ПЖ/желчных протоков. В большинстве случаев заболевание обнаруживают при изучении препарата, удаленного при резекции поджелудочной железы по поводу предполагаемой опухоли. Изначально убедительное предположение об АИП можно сделать лишь в том случае, когда у больного имеется тотальная (диффузная) форма патологии. В этом случае при проведении компьютерной томографии выявляют так называемую колбасовидную поджелудочную железу («sausage-shaped pancreas») с характерным гиподенсным ободком в паренхиматозную или отсроченную фазу контрастирования. У 53–76% больных АИП часто имеет место повышение концентрации IgG<sub>4</sub> в сыворотке крови [14].

В соответствии с результатами работы, выполненной Chang и соавт. [15], сывороточный уровень IgG<sub>4</sub>, превышающий 280 мг/дл, с высокой степенью достоверности свидетельствует в пользу диагноза АИП. Кроме того, авторы показали, что исследование уровня онкомаркера СА 19-9 наряду с определением содержания IgG<sub>4</sub> в сыворотке крови пациентов позволяет провести дифференциальную диагностику между АИП, особенно в случае очаговой формы заболевания, и раком поджелудочной железы. Диагностическая точность такой модели при условии,

что уровень IgG<sub>4</sub> превышает 280 мг/дл, а онкомаркера СА 19-9 — не превосходит 85 МЕ/мл, составила 85,6%.

Для АИП типично поражение других органов. В связи с этим АИП 1-го типа нередко рассматривают как часть IgG<sub>4</sub>-ассоциированного заболевания, которое включает в себя также поражение желчных протоков (как внутри-, так и внепеченочных), фиброз забрюшинной клетчатки, увеличение слюнных и слезных желез, лимфоаденопатию средостения, поражение плевры. При исследовании легких выявляют отдельные или сливающиеся узлы и инфильтраты, увеличение перибронхиальных лимфоузлов [14, 16].

Диагностические критерии АИП включают следующие [17].

- **Уровень А.** Типичные гистологические признаки: участок ткани с характерными особенностями лимфо-плазматического склерозирующего панкреатита;  $\geq 10$  IgG<sub>4</sub><sup>+</sup> клеток в поле зрения на фоне лимфоплазматической инфильтрации (рис. 4).
- **Уровень В.** Диффузное увеличение ПЖ по данным компьютерной / магнитно-резонансной томографии с отсроченным контрастным усилением и наличием ободка («капсула»); диффузная неравномерность просвета главного панкреатического протока при эндоскопической ретроградной холангиопанкреатографии (ЭРХПГ); повышение концентрации IgG<sub>4</sub> в сыворотке крови.
- **Уровень С.** Положительный ответ на стероидные гормоны при исключении всех прочих причин поражения ПЖ + повышение содержания IgG<sub>4</sub> сыворотки.

141

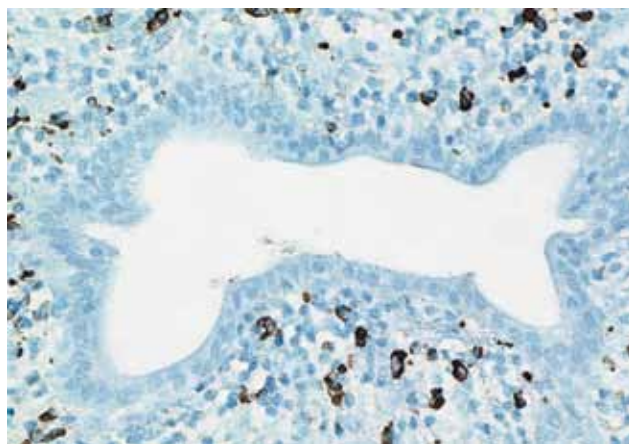


Рис. 4. Аутоиммунный панкреатит.

*Примечание.* IgG<sub>4</sub><sup>+</sup> плазматические клетки (более 10 в п/з) в паренхиме поджелудочной железы. Иммуногистохимическое окрашивание на IgG<sub>4</sub>.

Препаратами выбора при АИП являются глюкокортикоиды. Их применение обеспечивает купирование клинической симптоматики панкреатита или внепанкреатических поражений, восстановление размеров и структуры ПЖ (при отсутствии выраженного фиброза). Минимально эффективной дозой преднизолона при АИП является 35–40 мг/сут (0,6–1 мг/кг веса тела пациента). Клинический эффект наступает обычно через 2–3 нед от начала лечения, нормализация лабораторно-инструментальных данных — через несколько недель-месяцев [18].

Атрофия ПЖ и экзокринная панкреатическая недостаточность развиваются примерно у 1/3 пациентов.

Согласно результатам исследования, выполненного Huggett и соавт. [19], АИП, а также другие компоненты

IgG<sub>4</sub>-ассоциированного заболевания, и в частности IgG<sub>4</sub>-ассоциированный склерозирующий холангит, характеризуются высокими показателями смертности вследствие нарушения функции пораженных органов и развития злокачественных новообразований (10% пациентов, включенных в исследование, умерли в течение периода динамического наблюдения). В этой работе было также показано, что, несмотря на высокую эффективность терапии с применением глюкокортикоидов (97%), рецидив заболевания наступал у 50% пациентов, включенных в исследование. Вместе с тем развитие злокачественных новообразований незадолго до или после диагностики заболевания было зарегистрировано у 11% пациентов, при этом у 3% из них были обнаружены злокачественные новообразования панкреатодуоденальной зоны.

Таким образом, пациенты с установленным диагнозом АИП в рамках IgG<sub>4</sub>-ассоциированного заболевания имеют более высокий риск развития рака ПЖ в сравнении с больными хроническим панкреатитом другой этиологии. В связи с этим данная группа пациентов нуждается в постоянном наблюдении врачом и проведении лабораторных и инструментальных методов исследования с целью оценки функции пораженных органов и своевременного обнаружения злокачественных новообразований.

### Аутоиммунные заболевания печени

Аутоиммунные заболевания печени можно разделить на 3 группы. Одна из них представлена гепатитами, другая — аутоиммунными заболеваниями печени с первичным поражением билиарного тракта. К первой группе относятся аутоиммунные гепатиты (АИГ) 1-го и 2-го типа, а ко второй — первичный билиарный цирроз (ПБЦ) и первичный склерозирующий холангит (ПСХ). Третью группу составляют болезни, характеризующиеся сочетанием аутоиммунного гепатита и заболеваний, протекающих с поражением билиарного тракта [20].

#### Аутоиммунный гепатит

АИГ представляет собой хроническое воспалительное заболевание печени неизвестной этиологии, характеризующееся воспалением ткани печени с развитием перипортального гепатита со ступенчатыми или мостовидными некрозами, значительной гипергаммаглобулинемией и появлением в сыворотке крови широкого спектра аутоантител [21].

Заболеваемость АИГ выше среди женщин, и соотношение мужчин и женщин по данным эпидемиологических исследований составляет 1:8–10. Заболеваемость АИГ составляет 0,85–1,9 случаев на 100 тыс. населения в год, а распространенность — 10,7–42,9 случаев на 100 тыс. населения. В течение последних 10 лет отмечается рост заболеваемости АИГ: в частности, в странах Западной Европы — в среднем в 2,1 раза [22].

Механизмы повреждения печени при АИГ остаются неизвестными. Обсуждается роль генетических факторов, поскольку с предрасположенностью к АИГ ассоциированы все аллели HLA-DR3, а также аллели HLA-DR4. Интересным представляется тот факт, что у пациентов с АИГ, проживающих в различных географических регионах, преобладает тот или иной аллель HLA. Так, в Северной Америке и странах Европы у пациентов с равной вероятностью обнаруживаются аллели HLA-DR3 и HLA-DR4, тогда как в странах Азии преобладающим является аллель HLA-DR4 [22]. В качестве триггеров заболевания также рассматривают вирусную инфекцию

(вирусы гепатита А, В и С, вирусы герпеса 1-го и 6-го типа, вирус Эпштейна–Барр), факторы окружающей среды, некоторые лекарственные препараты и т.д. [23].

Спектр выявляемых при АИГ аутоантител положен в основу классификации этого заболевания, согласно которой выделяют АИГ 1-го и 2-го типа. Для АИГ 1-го типа, на долю которого приходится до 80% всех случаев АИГ, характерно наличие антинуклеарных антител (ANA) и/или антител к гладкой мускулатуре (ASMA). Антигенами для ANA являются различные участки ядерной ДНК, а также структурные и функциональные ядерные белки, а для ASMA — актиносодержащие микрофиламенты гладкомышечных клеток и гепатоцитов. При АИГ 2-го типа в сыворотке крови в большинстве случаев определяются антитела к микросомам печени и почек (anti-LKM), в качестве антигена для которых выступают ферменты семейства цитохрома P-450 и УДФ-глюкурозилтрансфераза, а также антитела к цитозольному антигену гепатоцитов (anti-LC1), антигеном для которых служит фермент формаминотрансфераза-циклодезаминаза [20–22].

Перечисленные антитела служат не только одним из критериев диагностики АИГ: их титры, а также их динамика на фоне терапии могут быть включены в оценку прогноза пациентов с АИГ. Так, в недавно проведенном исследовании было показано, что сохранение высоких титров ASMA (>1:80), несмотря на лечение, ассоциировано с высокой активностью заболевания [24]. Определенное значение при оценке прогноза пациентов может также иметь и титр ANA к рибосомальному р-протеину [22].

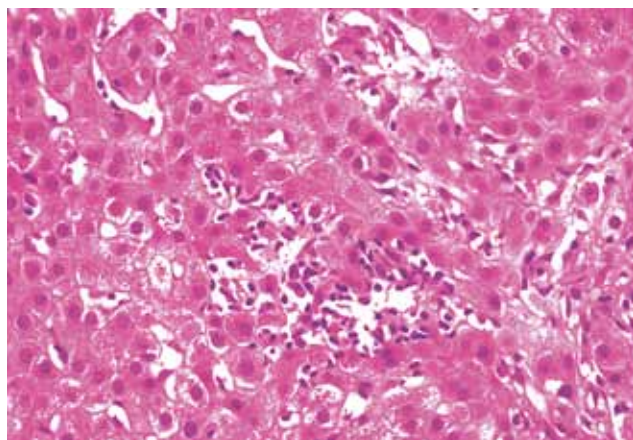
В основе диагностики АИГ лежит оценка спектра характерных лабораторных и морфологических изменений в соответствии с разработанной международной рабочей группой по изучению АИГ (IAIGH) системой балльной оценки при диагностике этого заболевания. Чувствительность и специфичность этой шкалы для постановки диагноза «вероятного» АИГ (10–15 баллов до лечения и 12–17 баллов на фоне терапии) составляют 65–95 и 90–99%, соответственно [22].

Среди лабораторных критериев АИГ следует отметить повышение активности печеночных трансаминаз. При этом степень повышения может быть различной в зависимости от варианта дебюта заболевания, но, как правило, превышает в 5 раз верхнюю границу нормы. Содержание маркеров холестаза (щелочной фосфатазы,  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы, общего и прямого билирубина) при этом также может возрастать, но в значительно меньшей степени. Отличительной чертой АИГ является гипергаммаглобулинемия и повышение сывороточной концентрации IgG [25].

Гистологические признаки АИГ неспецифичны. К ним относят: перипортальный («интерфейс») гепатит со ступенчатыми или мостовидными некрозами, который обнаруживается в биоптатах печени 84–98% пациентов с АИГ, лимфомакрофагальную инфильтрацию в портальной и перипортальной зонах, нередко со значительным содержанием плазматических клеток (рис. 5, 6). Следует отметить, что выраженные в той или иной степени изменения со стороны желчных протоков могут быть обнаружены в биоптатах печени примерно у 24% пациентов с АИГ [22].

Клинические признаки АИГ в большинстве случаев также неспецифичны, и степень их выраженности может значительно различаться в зависимости от варианта дебюта заболевания: острый, фульминантный, хронический или бессимптомный АИГ. У 12–35% пациентов с АИГ заболевание на момент постановки диагноза протекает бессимптомно, и изменения в биохимических тестах кро-





**Рис. 5.** Аутоиммунный гепатит.

*Примечание.* Перипортальное воспаление («интерфейс-гепатит») с развитием ступенчатых некрозов. Лимфомакрофагальная инфильтрация в портальной и перипортальной зоне со значительным числом плазматических клеток. Окраска гематоксилин-эозином.

ви выявляются случайно, при обследовании по поводу других причин [25].

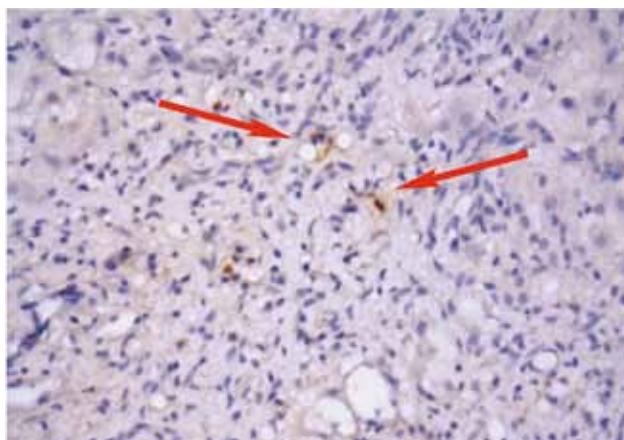
В лечении АИГ используют 2 подхода. Первый подразумевает монотерапию преднизолоном в стартовой дозе 60–40 мг/сут. Второй подход основан на комбинированной терапии преднизолоном в стартовой дозе 30 мг/сут и азатиоприном в дозе 1–2 мг/кг в сут. Комбинированной терапии преднизолоном и азатиоприном следует отдавать предпочтение при наличии противопоказаний к назначению высоких доз преднизолона, к примеру, при остеопорозе, сахарном диабете, артериальной гипертензии, ожирении. В случае достижения пациентом лабораторной, клинической и гистологической ремиссии препараты могут быть полностью отменены после 24 мес лечения. Если в течение 36 мес терапии ремиссия заболевания не наступила, пациентам необходимо продолжать прием преднизолона в поддерживающей дозе ( $\leq 10$  мг/сут) или азатиоприна в дозе 2 мг/кг массы тела пожизненно [26].

В случае своевременной постановки диагноза и начала лечения на ранних стадиях заболевания прогноз АИГ благоприятный; ремиссии удается достичь более чем 80% пациентам, а десятилетняя выживаемость в среднем составляет 96%. В случае развития цирроза печени возможно формирование гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), хотя частота ее развития значительно ниже, чем при хронических вирусных поражениях печени. Так, например, в работе Danielsson Borssén и соавт. [27] было показано, что частота развития ГЦК у пациентов с циррозом печени в исходе АИГ составляет 0,3%.

### **Первичный билиарный цирроз**

Первичный билиарный цирроз (ПБЦ) представляет собой хроническое медленно прогрессирующее холестатическое заболевание печени неизвестной этиологии, при котором первоначально поражаются внутридольковые и септальные желчные протоки, и которое приводит к развитию цирроза печени и печеночной недостаточности [18].

Заболеваемость выше среди женщин, и соотношение мужчины / женщины для ПБЦ составляет 1:8–10. Заболеваемость ПБЦ колеблется в пределах от 0,33 до 5,8 случаев на 100 тыс. населения в год, а распространенность — от 1,91 до 40,2 случаев на 100 тыс. населения. В последние



**Рис. 6.** Аутоиммунный гепатит.

*Примечание.* Экспрессия трансформирующего фактора роста (ТФР)  $\beta$  в макрофагах, расположенных в участках фиброза паренхимы печени (указано стрелками). Иммуногистохимическое окрашивание на ТФР  $\beta$ .

годы отмечается тенденция к росту заболеваемости: в частности, в странах Западной Европы — в среднем в 1,3–1,7 раза [21].

Результаты выполненных в течение последних десятилетий исследований позволяют выделить 2 основных аспекта в патогенезе ПБЦ: генетическую предрасположенность и триггерные факторы окружающей среды. Существует ассоциация заболевания с гаплотипами HLA-B8, -DR3, -DR4, -DR2. Среди факторов риска развития ПБЦ, выявленных в эпидемиологических исследованиях, следует отметить также дефицит эстрогенов, предшествующие оперативные вмешательства, инфекции мочевыводящих путей и курение [28].

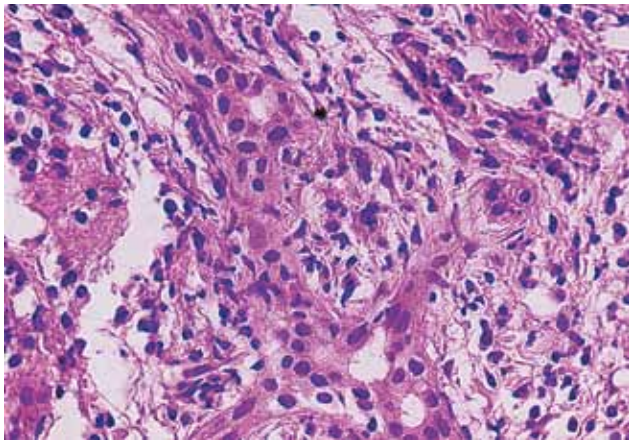
При ПБЦ более чем у 90% пациентов в сыворотке крови определяются антимиохондриальные антитела (АМА), антигенами для которых являются компоненты комплекса дегидрогеназ 2-оксокислот и главным образом E2-субъединица пируватдегидрогеназного комплекса митохондрий [29, 30].

Наряду с АМА к лабораторным критериям ПБЦ относят: повышение содержания маркеров холестаза (щелочной фосфатазы,  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы, общего и прямого билирубина), тогда как активность печеночных трансаминаз, как правило, находится в пределах нормальных значений или повышается незначительно. Отличительной чертой ПБЦ также является повышение концентрации IgM в сыворотке крови.

Гистологически ПБЦ представляет собой негнойный деструктивный холангит, в течении которого с некоторой долей условности можно выделить 4 стадии (рис. 7, 8). Наибольшей популярностью градаций стадий ПБЦ пользуются системы, разработанные Ludwig и Scheuer [31].

Приблизительно у 1/4 больных с ПБЦ к моменту постановки диагноза заболевание протекает бессимптомно, и поводом для обращения к врачу служат изменения в функциональных пробах печени. К основным симптомам ПБЦ относят общую слабость, быструю утомляемость, которые к моменту диагностирования ПБЦ отмечают примерно 20% больных, а также зуд кожи, возникающий преимущественно в ночные часы и наблюдающийся, по разным данным, у 20–70% пациентов [18, 32].

Препаратом выбора при лечении ПБЦ является урсодезоксихолевая кислота (УДХК). Дозу препарата рас-



**Рис. 7.** Первичный билиарный цирроз. Картина деструктивного холангита.

*Примечание.* Просветы желчных протоков разные, эпителиоциты в стенках желчных протоков распределены неравномерно. Лимфоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином-эозином.

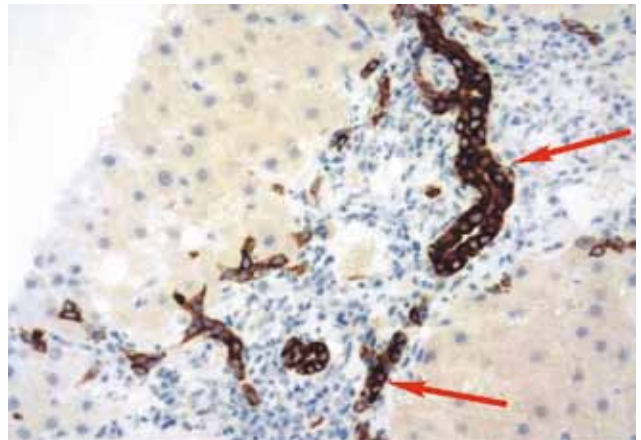
считывают индивидуально, исходя из расчета 13–15 мг/кг в сут. Оценку эффективности терапии производят через 1 год от начала лечения в соответствии с Парижскими (снижение уровня общего билирубина до 1 мг/дл, или 17 мкмоль/л и менее, активности щелочной фосфатазы — до  $\leq 3N$  по сравнению с верхней границей нормы, ВГН, активности аспарагиновой трансминазы —  $\leq 2$  ВГН) или Барселонскими критериями (снижение уровня общего билирубина на 40%, либо нормализация активности щелочной фосфатазы). В случае неполного биохимического ответа на терапию УДХК пациентам с ПБЦ без цирроза печени возможно назначение комбинированной терапии будесонидом в дозе 6–9 мг/сут и УДХК в дозе 13–15 мг/кг в сут [33–35].

Прогноз пациентов с ПБЦ в случае ответа на терапию (примерно 60% больных) является благоприятным, а выживаемость не отличается от таковой в общей популяции. Риск развития ГЦК у пациентов с ПБЦ ниже, чем при хронических вирусных поражениях печени. Так, по данным Rong и соавт. [36], распространенность ГЦК у пациентов с ПБЦ составляет 3,75%, а частота — 0,66 случаев на 100 пациенто-лет. При этом пяти- и десятилетняя кумулятивная частота ГЦК была равна 2,6 (95% ДИ 1,8–3,4) и 8,9% (95% ДИ 5,5–12,3), соответственно. К группе факторов риска возникновения ГЦК авторы отнесли, наряду с прочими, возраст старше 54 лет (ОР 5,5; 95% ДИ 3,0–10,1;  $p = 0,001$ ) и мужской пол (ОР 2,2; 95% ДИ 1,2–4,0;  $p = 0,001$ ).

### **Первичный склерозирующий холангит**

Первичный склерозирующий холангит (ПСХ) — хроническое прогрессирующее заболевание печени, при котором развивается склерозирующее воспаление внутри- и внепеченочных желчных протоков [37].

Заболеваемость выше среди мужчин, и соотношение мужчины / женщины для ПСХ составляет 2:1. Заболеваемость ПСХ колеблется от 0,9 до 1,3 случаев на 100 тыс. населения в год, а распространенность — от 8,5 до 13,6 случаев на 100 тыс. населения. Для ПСХ характерна частая ассоциация с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника (60–80% случаев). При этом в 80% случаев у пациентов с ПСХ диагностируют язвенный колит, а в 20% — болезнь Крона [21].



**Рис. 8.** Первичный билиарный цирроз.

*Примечание.* Проплиферация желчных протоков (указано стрелками) в портальных трактах. Желчные протоки имеют неправильную форму и лишены просвета. Иммуногистохимическое окрашивание на цитокератин 19.

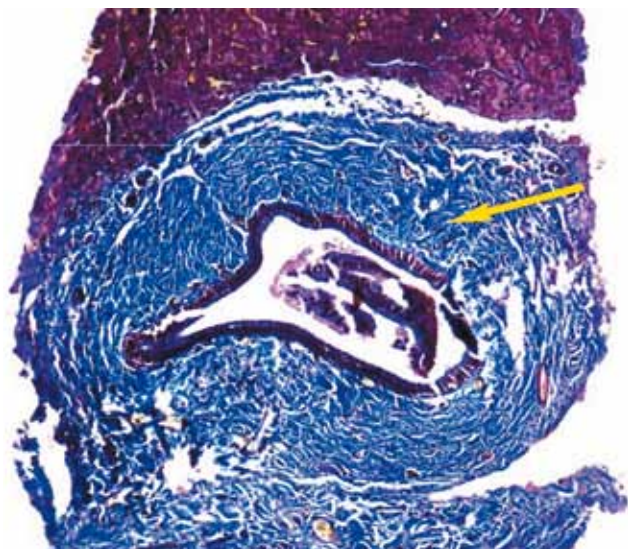
Этиология ПСХ неизвестна. Как и для других аутоиммунных заболеваний органов пищеварения, для ПСХ характерна генетическая предрасположенность. Установлена ассоциация заболевания с гаплотипами HLA-A1, -B8, -DR3, -DR2, -DR6 -DRw52a и др. В качестве триггеров заболевания рассматривают различные факторы внешней среды. Предполагается, что основную роль в развитии повреждения желчных протоков играет нарушение работы транспортных систем желчных кислот, которое приводит к увеличению внутрипротокового давления, разрыву протоков и повреждению компонентами желчи паренхимы печени [37].

При ПСХ у 65–87% пациентов в сыворотке крови определяются антитела к цитоплазматическим антигенам нейтрофилов с перинуклеарным типом иммунофлуоресценции (pANCA). Антигены, к которым вырабатываются pANCA, в настоящее время остаются неизвестными. Обсуждается возможное значение в патогенезе болезни каталазы — фермента, участвующего в расщеплении пероксида водорода с образованием воды и молекулы кислорода, а также  $\alpha$ -энлазы — фермента, участвующего в реакциях гликолиза. Кроме того, у пациентов с ПСХ могут определяться ANA (8–77%) и ASMA (0–83%) [18, 36].

Гистологическими изменениями, специфичными для ПСХ, следует считать склерозирование и облитерацию внутри- и внепеченочных желчных протоков тяжами соединительной ткани по типу «луковичной шелухи» (рис. 9). Таким образом, ПСХ отличается от ПБЦ не только характером, но и уровнем поражения желчных протоков: при ПБЦ поражаются мелкие внутрипеченочные и септальные желчные протоки, в то время как при ПСХ возможно поражение любого участка билиарного тракта.

Основу диагностики ПСХ в отличие от других аутоиммунных заболеваний печени составляют данные магнитно-резонансной холангиопанкреатографии (МРХПГ) или ЭРХПГ. У 80% пациентов при МРХПГ или ЭРХПГ выявляются изменения внутри- и/или внепеченочных желчных протоков по типу «нити жемчуга» (чередование участков стенозирования желчных протоков с прстенотическими расширениями; рис. 10). В случае отсутствия типичных изменений желчных протоков при МРХПГ или ЭРХПГ необходимо выполнение биопсии печени для исключения поражения мелких желчных протоков [33].





**Рис. 9.** Первичный склерозирующий холангит.

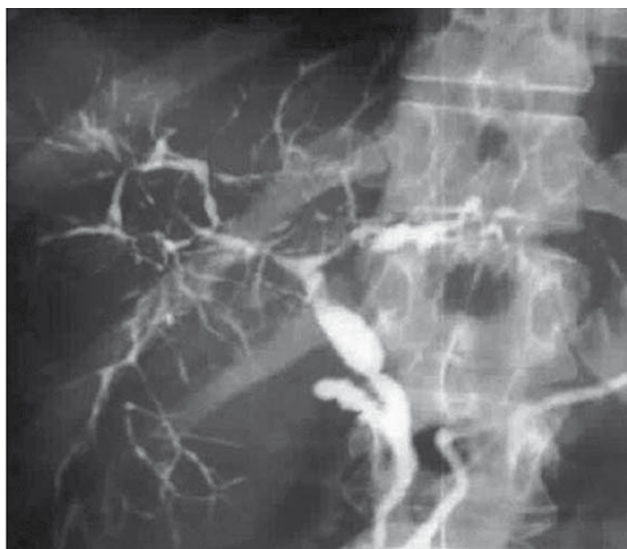
*Примечание.* Склерозирование и облитерация желчного протока тяжами соединительной ткани по типу «луковичной шелухи» (указано стрелкой). Окраска трихромом по Массону.

Клиническая картина ПСХ отличается значительной вариабельностью, обусловленной наличием или отсутствием осложнений, связанных с поражением желчных протоков. Частым симптом ПСХ, так же как и ПБЦ, является зуд кожи. Среди других клинических симптомов следует указать рецидивирующую желтуху, лихорадку, абдоминальную боль.

Возможности консервативной терапии ПСХ ограничены. Прием УДХК (15–20 мг/сут) способствует улучшению лабораторных показателей, но не обладает доказанным влиянием на выживаемость пациентов с ПСХ. При наличии выраженных стриктур желчных протоков (ширина просвета общего желчного протока <1,5 мм или печеночных протоков <1 мм) показано хирургическое лечение: баллонная дилатация или стентирование желчных протоков. В терминальных стадиях ПСХ, а также при наличии дисплазии холангиоцитов или рецидивирующем бактериальном холангите, рекомендуется проведение трансплантации печени [33, 34]. Рецидив ПСХ в трансплантате наблюдается у 20–40% пациентов с ПСХ [38].

Важную диагностическую и терапевтическую проблему представляет холангиоцеллюлярная карцинома, частота развития которой у этой группы больных составляет, по данным разных авторов, от 5 до 20%. Кроме того, у пациентов с ПСХ и язвенным колитом в 4–6 раз по сравнению с пациентами с язвенным колитом без ПСХ возрастает риск развития колоректального рака [39].

Принимая во внимание отсутствие в настоящее время эффективной и безопасной терапии ПСХ, высокий риск рецидива заболевания после трансплантации печени, а также высокую частоту развития на фоне ПСХ злокачественных новообразований, очевидной становится потребность в создании новых лекарственных препаратов. Благодаря исследованиям последних лет, появились новые данные о патогенезе ПСХ, в частности, об участии в этом процессе различных механизмов врожденного и приобретенного иммунного ответа, а также транспортных систем гепатоцитов, ответственных преимущественно за перенос фосфатидилхолина из гепатоцита в желчь. Поскольку ведущая роль в регуляции синтеза и метаболизма



**Рис. 10.** Первичный склерозирующий холангит.

*Примечание.* Характерные для первичного склерозирующего холангита изменения при эндоскопической ретроградной холангиопанкреатографии: множественные стенозы внутрипеченочных желчных протоков, чередующиеся с участками престенотических расширений желчных протоков. Изменения протоков по типу «нити жемчуга».

желчных кислот, а также транспорта компонентов желчи через мембрану гепатоцита принадлежит ядерным рецепторам и главным образом фарнезоидному X-рецептору (FXR), возможно изучение применения в качестве препаратов для лечения ПСХ агонистов FXR. На данный момент исследование эффективности и безопасности таких препаратов проводится у животных моделей ПСХ. Согласно результатам этих работ, применение агонистов FXR сопровождается уменьшением степени выраженности воспаления в ткани печени, повреждения желчных протоков, степени развития фиброза печени [38].

Кроме того, учитывая невысокую частоту ответа на терапию УДХК у пациентов с ПБЦ, среди клиницистов и исследователей также обсуждается необходимость создания новых, возможно, более эффективных препаратов для лечения этого заболевания. Одно из направлений таких работ — изучение возможности применения у пациентов с ПБЦ агонистов FXR.

### Аутоиммунные заболевания кишки

К аутоиммунным заболеваниям кишки относятся болезнь Крона (БК), язвенный (ЯК) и микроскопический колит.

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) развиваются под влиянием факторов окружающей среды у генетически предрасположенных лиц при взаимодействии иммунных факторов защиты и микрофлоры, обитающей в просвете кишки, и проявляются неспособностью иммунной системы, ассоциированной со слизистой оболочкой кишечника, контролировать воспалительный процесс.

Возможность контакта бактерий, обитающих в просвете кишки, с клетками иммунной системы хозяина обеспечивается качественным и количественным составом кишечной микрофлоры; преобладанием в составе микробиома бактериальных клеток, имеющих способность к адгезии и инвазии; компетентностью слоя слизи, выстилающей слизистую оболочку ЖКТ, задерживающей



и фиксирующей микробные клетки; полноценностью функции межклеточных контактов эпителиального слоя; плотностью сигнальных рецепторов; уровнем экспрессии антимикробных пептидов; завершенностью процесса аутофагии.

В патогенезе ВЗК играют роль следующие факторы: качественный и количественный состав микрофлоры у больных, страдающих воспалительными заболеваниями кишечника, изменен в сторону уменьшения содержания в кишечнике микробных клеток, служащих основными продуцентами короткоцепочечных жирных кислот, и увеличения содержания условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, несущих факторы адгезии и инвазии, что позволяет таким микробным клеткам разрушать эпителиальный слой [40].

Хорошо известно также, что у пациентов определяется нарушение слизистого барьера (слой слизи более тонкий, чем у здоровых лиц). Кроме того, при изучении биоптатов слизистой оболочки кишки пациентов с ЯК и БК было обнаружено нарушение строения плотных контактов, характеризующееся уменьшением числа белковых нитей, глубины сетчатой структуры, снижением интенсивности экспрессии отдельных типов клаудинов и окклюдина в них [41].

У пациентов, страдающих ВЗК, описаны мутации генов, кодирующих белки сигнальных рецепторов, что приводит к снижению толерантности слизистой оболочки к микроорганизмам, поскольку мутировавший рецептор утрачивает способность к адекватному восприятию компонентов бактериальной клетки. Вследствие этого существенно нарушается антимикробная защита. У больных ЯК и БК происходит выраженное снижение уровня экспрессии различных антимикробных пептидов по сравнению с таковым у здоровых лиц, а также нарушение процесса аутофагии.

У пациентов, страдающих БК и микроскопическим колитом, происходит преимущественная дифференцировка наивных Т клеток в  $T_{H1}$  и блокада формирования  $T_{H2}$  лимфоцитов.  $T_{H1}$  клетки стимулируют иммунную цитотоксичность и приводят к образованию гранул в тканях.

Дифференцировка наивных лимфоцитов у больных ЯК происходит, главным образом, в направлении  $T_{H2}$ , что приводит к реализации иммунологической реактивности организма по типу гуморального иммунного ответа. Морфологически реакции гиперчувствительности представлены иммунным воспалением. При этом в стенках сосудов развивается фибриноидный некроз (некротизирующий васкулит), повышается сосудистая проницаемость для грубодисперсных белков (фибриноген) и форменных элементов крови, что приводит к повреждению слизистой оболочки кишки, образованию эрозий и язв [42].

### Болезнь Крона

Болезнь Крона (БК) — мультисистемное заболевание со специфической клинической картиной, характеризующееся фокальным асимметричным трансмуральным гранулематозным воспалением, которое поражает прежде всего ЖКТ. Может также проявляться системными и внекишечными осложнениями, такими как поражения суставов (артриты или артралгии), кожи (узловатая эритема, гангренозная пиодермия), глаз (ирит, иридоциклит, увеит), слизистых оболочек (афтозный стоматит) [42].

Заболеваемость БК составляет 4–7 случаев на 100 тыс. населения в год, а распространенность — 100–200 случаев на 100 тыс. населения. В последние десятилетия зарегистрирована тенденция к увеличению заболеваемости БК в среднем в 6 раз [42, 43].

К наиболее частым клиническим признакам обострений БК относятся диарея или запор, боль в животе, снижение массы тела, стул с кровью и лихорадка. Кроме того, при БК нередко отмечаются многочисленные симптомы, указывающие на поражение различных органов и систем. Эти симптомы могут быть отражением внекишечных проявлений, осложнений и последствий основного заболевания, результатом побочного действия лекарственных препаратов или проявлением случайно сочетающихся заболеваний [44].

В настоящее время существует несколько классификаций БК, в основу которых положены форма течения заболевания, локализация воспалительного процесса, наличие или отсутствие внекишечных проявлений и особенностей заболевания. К примеру, различия в течении заболевания позволили выделить следующие формы БК: фистулизирующую (пенетрирующую), с формированием свищей и фистул; стенозирующую (формирование стеноза участка кишечника) и нестенозирующую / нефистулизирующую форму. Другим примером является классификация БК по локализации воспалительного процесса, согласно которой выделяют терминальный илеит, изолированное поражение толстой кишки, комбинированное поражение толстой и тонкой кишки и поражение верхних отделов ЖКТ.

С целью определения степени тяжести заболевания не утратил своего значения индекс активности БК по Бесту, предложенный еще в 1976 г. Индекс главным образом основан на анализе субъективных симптомов и зависит от характеристики жалоб самим пациентом и их оценки лечащим врачом. При этом лабораторные показатели (за исключением гематокрита) не учитываются [43].

Для установления диагноза БК, как и других ВЗК, необходим анализ клинической картины заболевания, результатов лабораторных (клинический, биохимический анализ крови, концентрация С-реактивного белка, копрологическое исследование, исследование токсинов А и В *Clostridium difficile*) и инструментальных (колоноскопия с конфокальной лазерной эндомикроскопией; МСКТ брюшной полости — энтероколонография) методов исследования, а также результатов гистологического исследования слизистой оболочки пораженных участков тонкой и/или толстой кишки.

Одним из существенных гистологических признаков БК, отличающих это заболевание от ЯК и микроскопического колита, является распространение воспалительного инфильтрата на все слои кишечной стенки (трансмуральный характер воспаления). При этом в большинстве случаев сохраняются архитектоника крипт и обычное число бокаловидных клеток. Однако в краях язв в слизистой оболочке строение крипт нарушается, и бокаловидные клетки почти полностью исчезают, что придает этим изменениям сходство с таковыми при ЯК (рис. 11) [45].

Другим отличительным признаком воспаления при БК является неравномерная плотность инфильтрата собственной пластинки слизистой оболочки. В инфильтрате преобладают лимфоциты, в несколько меньшем количестве определяются плазматические клетки, эозинофилы и сегментоядерные лейкоциты. Для БК характерно образование гранул, однако они обнаруживаются при гистологическом исследовании лишь в небольшом проценте случаев. Гранулемы при БК состоят из эпителиоидных и гигантских клеток типа Пирогова—Лангханса, окруженных поясом из лимфоцитов, и не имеют четких границ (рис. 12) [43, 44].

Терапевтический подход зависит от локализации заболевания, тяжести его течения и наличия осложнений. В

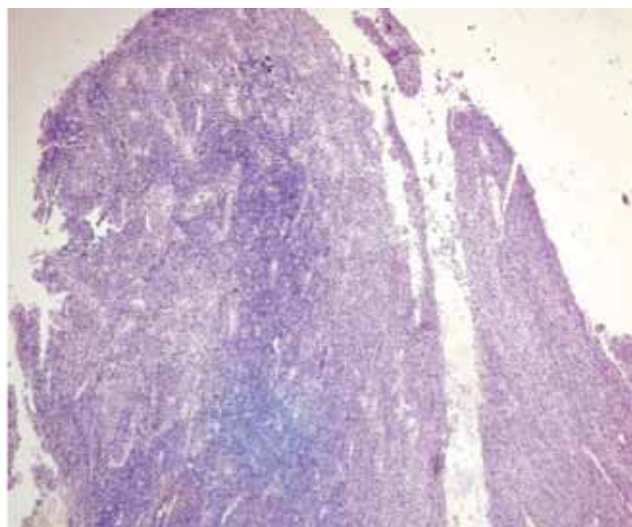


Рис. 11. Болезнь Крона.

*Примечание.* Одним из существенных гистологических признаков болезни Крона, отличающих это заболевание от язвенного и микроскопического колита, является распространение воспалительного инфильтрата на все слои кишечной стенки (трансмуральный характер воспаления). В микропрепарате слизистой оболочки кишки представлена щелевидная язва. Окраска гематоксилином-эозином.

лечении БК применяют препараты 5-аминосалициловой кислоты, глюкокортикоиды, иммуносупрессоры и антагонисты фактора некроза опухоли  $\alpha$ . Приблизительно 2/3 пациентам требуется хирургическое лечение.

### Язвенный колит

Язвенный колит (ЯК) — хроническое заболевание, которое поражает только толстую кишку и никогда не распространяется на тонкий кишечник. Исключение составляет состояние, обозначенное термином «ретроградный илеит», однако это воспаление носит временный характер и не является истинным проявлением ЯК [46].

Распространенность ЯК составляет от 21 до 268 случаев на 100 тыс. населения, а заболеваемость — 5–20 случаев на 100 тыс. населения в год, и этот показатель продолжает расти (приблизительно в 6 раз за последние 40 лет) [47].

К основным клиническим симптомам ЯК относятся диарея и/или ложные позывы к дефекации с кровью, императивные позывы к дефекации, а также ночная дефекация. При тяжелой атаке ЯК возможно появление общих симптомов, таких как снижение массы тела, общая слабость, анорексия и лихорадка. Кроме того, клиническая картина при ЯК, так же как и при БК, определяется наличием или отсутствием внекишечных проявлений и осложнений заболевания.

Существует несколько классификаций ЯК, которые основываются на протяженности поражения, характере течения, тяжести атаки и наличии осложнений. Форма заболевания, установленная в соответствии с перечисленными выше системами, определяет вид и путь введения лекарственных препаратов, а также периодичность скрининга на колоректальный рак.

Для описания протяженности поражения используют Монреальскую классификацию, оценивающую протяженность макроскопических изменений при эндоскопическом исследовании толстой кишки. Согласно ей выделяют 3 формы ЯК: проктит, левосторонний и тотальный колит. Характер течения ЯК классифицируют на острое,

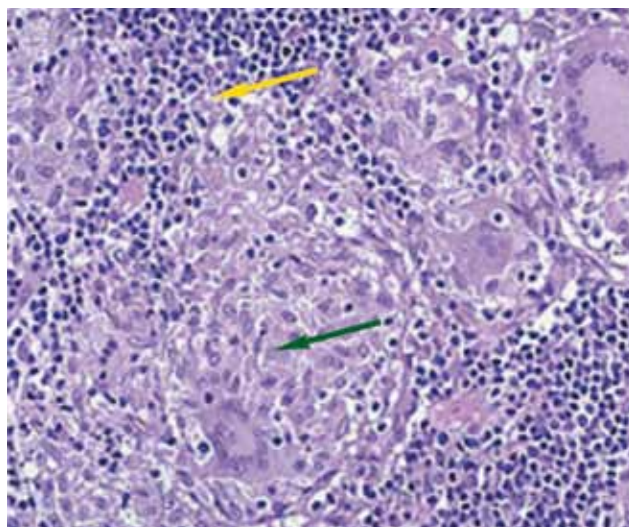


Рис. 12. Болезнь Крона.

*Примечание.* В центре микропрепарата — гранулема, состоящая из эпителиоидных и гигантских клеток типа Пирогова–Лангханса (указано зеленой стрелкой), окруженных поясом из лимфоцитов (указано желтой стрелкой). Окраска гематоксилином-эозином.

хроническое непрерывное и хроническое рецидивирующее течение.

Для формулирования диагноза и определения тактики лечения следует оценить степень тяжести текущего обострения (атаки) в соответствии с критериями Трулов–Витса [46, 47].

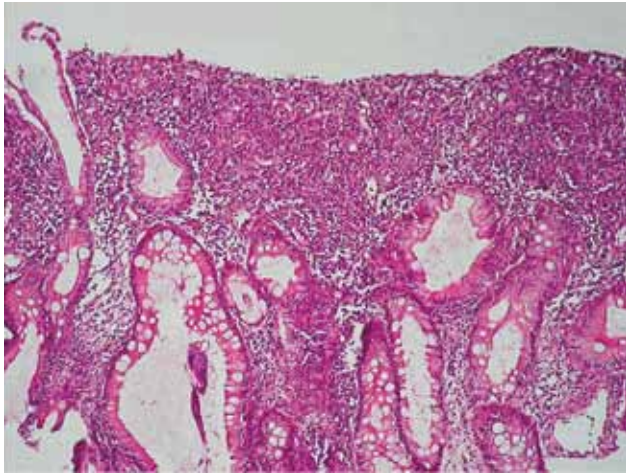
В основе диагноза ЯК лежит анализ клинической картины заболевания, результаты лабораторных (клинический, биохимический анализ крови, концентрация С-реактивного белка, копрологическое исследование, исследование токсинов А и В *C. difficile*) и инструментальных (колоноскопия с конфокальной лазерной эндомикроскопией; МСКТ брюшной полости — энтероколонография) методов исследования, а также данные гистологического исследования слизистой оболочки толстой кишки.

К гистологическим признакам ЯК относят деформацию крипт (разветвленность, разнонаправленность, появление крипт разного диаметра, уменьшение плотности крипт, «укорочение» крипт), «неровную» поверхность слизистой оболочки в биоптате, уменьшение числа бокаловидных клеток, базальный плазмодитоз, инфильтрацию собственной пластинки слизистой оболочки, наличие крипт-абсцессов и базальных лимфоидных скоплений (рис. 13) [45, 47].

Терапевтические подходы при ЯК определяются тяжестью атаки, протяженностью поражения толстой кишки, наличием внекишечных проявлений, длительностью анамнеза, эффективностью и безопасностью ранее проводившейся терапии, а также риском развития осложнений ЯК. В лечении ЯК используют тот же спектр препаратов, что и в терапии БК, а именно: препараты 5-аминосалициловой кислоты, глюкокортикоиды, иммуносупрессоры и антагонисты фактора некроза опухоли  $\alpha$ .

Несмотря на то, что применение антагонистов фактора некроза опухоли  $\alpha$  при лечении пациентов с ВЗК позволило значительно улучшить прогноз их жизни, у 30–45% больных прием таких препаратов через 2–6 лет от начала лечения приходится прекращать в связи с отсутствием эффекта, неполным ответом на терапию или раз-





**Рис. 13.** Язвенный колит.

*Примечание.* Густой воспалительный инфильтрат в слизистой оболочке и отсутствие поверхностного эпителия. Отмечаются участки формирующейся грануляционной ткани, дезорганизация крипт (крипты деформированы, размеры их неодинаковы). Окраска гематоксилином-эозином.

148

втием нежелательных явлений. Принимая во внимание этот факт, а также новые данные о механизмах развития ВЗК, представленные в исследованиях последних лет, возможно создание новых лекарственных препаратов и изучение эффективности уже известных, но ранее не применявшихся у этой группы пациентов вариантов лечения. Обнадёживающие результаты были получены в исследованиях по изучению эффективности и безопасности препаратов, влияющих на миграцию лейкоцитов, антагонистов интерлейкина 12, интерлейкина 23 и янус-киназы, а также антител к интерлейкину 6. Каждый из перечисленных выше препаратов обладает как рядом преимуществ, так и рядом ограничений к применению, в связи с чем требуются дальнейшие исследования в этой области [48]. Кроме того, возможность применения у пациентов с ВЗК таких препаратов, как пробиотики, молекулы, восстанавливающие экспрессию белков, формирующих плотные контакты или их синтетические аналоги, синтетические аналоги антимикробных пептидов, и соединения, обеспечивающие дифференцировку макрофагов в заданном направлении, также подлежит обсуждению [40].

### **Микроскопический колит**

Микроскопический колит — это общий термин, объединяющий два заболевания толстой кишки: лимфоцитарный и коллагеновый колит. Такое название отражает отсутствие изменений со стороны слизистой оболочки толстой кишки при эндоскопическом исследовании и наличие характерных гистологических изменений в биоптатах слизистой оболочки толстой кишки [45].

В настоящее время рекомендации по диагностике и лечению микроскопического колита не разработаны.

Первые описания коллагенового колита представлены в независимых печатных изданиях, опубликованных в 1976 г. Лимфоцитарный колит был впервые описан в 1980 г. Два этих заболевания были в дальнейшем объединены одним термином «микроскопический колит».

Период с 1998 по 2010 г. отмечен выраженным ростом заболеваемости микроскопическим колитом: 0,8 случаев на 100 тыс. населения в год в 1998 и 18 случаев на 100 тыс. населения в год — в 2010 г. Такая тенденция, по-видимому, обусловлена усовершенствованием методов

диагностики и увеличением количества информации об этом заболевании. Пик заболеваемости приходится на возраст 60–70 лет, причем коллагеновый колит чаще диагностируют у женщин, а лимфоцитарный, напротив, — у мужчин [49].

К клиническим признакам коллагенового и лимфоцитарного колита относят водянистую диарею, появляющуюся, в т.ч. в ночные часы, неотложные позывы на дефекацию, недержание кала, абдоминальную боль, снижение массы тела и астенический синдром.

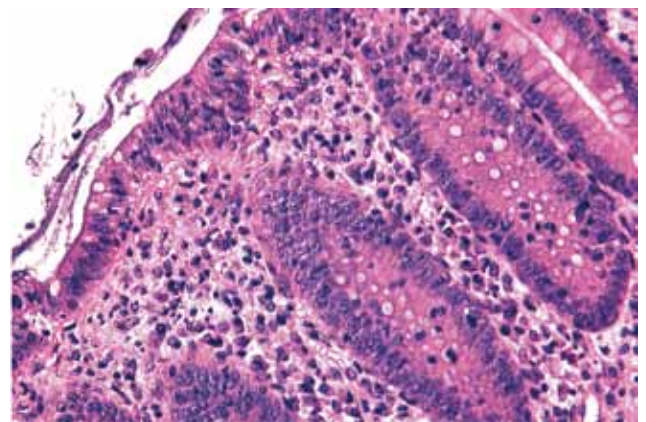
В основе диагностики микроскопического колита лежит специфическая гистологическая картина. У пациентов с коллагеновым колитом в биоптатах толстой кишки определяются следующие изменения: неравномерное утолщение субэпителиального коллагена  $\geq 10$  мкм в толщину по сравнению с нормальной базальной мембраной ( $< 3$  мкм), при этом в нем могут определяться капилляры, эритроциты и клетки воспалительного ряда; вакуолизация; утолщение поверхностного эпителия; фокальные отрывы эпителия от базальной мембраны; увеличение числа лимфоцитов, тучных клеток, нейтрофилов, эозинофилов в собственной пластинке слизистой оболочки. Изменения при коллагеновом колите более выражены в восходящей и поперечно-ободочной кишке. К специфическим гистологическим изменениям при лимфоцитарном колите относят увеличение числа интраэпителиальных лимфоцитов  $\geq 20$  на 100 эпителиальных клеток слизистой оболочки (рис. 14, 15) [45].

В настоящее время в литературе представлены данные об эффективности глюкокортикоидов (будесонида), а также биологических агентов в терапии микроскопического колита, однако для подтверждения этой информации необходимы дополнительные исследования.

### **Целиакия**

Целиакия — хроническое генетически детерминированное аутоиммунное заболевание тонкой кишки, приводящее к развитию атрофической энтеропатии и мальабсорбции.

Целиакию чаще диагностируют у детей первого года жизни при переводе на смешанное вскармливание и введении в рацион питания злаков. В течение последнего десятилетия отмечен рост заболеваемости среди взрослого населения, при этом пик приходится на возраст 40 лет



**Рис. 14.** Микроскопический колит.

*Примечание.* Специфическим гистологическим признаком лимфоцитарного колита служит увеличение числа интраэпителиальных лимфоцитов  $\geq 20$  на 100 эпителиальных клеток слизистой оболочки. Окраска гематоксилином-эозином.

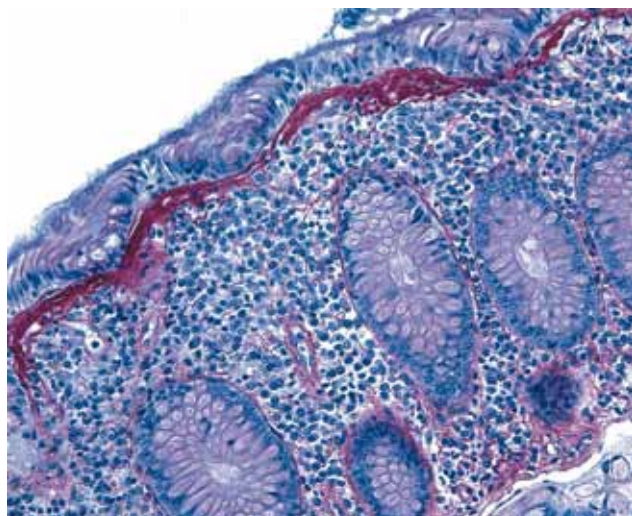


Рис. 15. Микроскопический колит.

*Примечание.* Неравномерное утолщение субэпителиального коллагена  $\geq 10$  мкм по сравнению с нормальной базальной мембраной ( $< 3$  мкм) при коллагеновом колите. Окраска гематоксилин-пикрофуксином.

и старше. Распространенность целиакии в разных странах составляет от 1 до 7% [50].

Установлена ассоциация целиакии с гаплотипами DG2/DQ8, реже — с DR3. В основе патогенеза заболевания лежит нарушение функции тканевой транслугтаминазы, что ведет к невозможности осуществления реакции дезамидирования нейтрально заряженного глютена в отрицательно заряженный нетоксичный глютен. В результате происходит запуск каскада аутоиммунных реакций с образованием аутоантител к глиадину, тканевой транслугтаминазе и эндомизию. Это приводит к повреждению энтероцитов и развитию атрофии слизистой оболочки тонкой кишки [50, 51].

Основу диагностики целиакии составляют обнаружение в сыворотке крови пациентов антител к тканевой транслугтаминазе, глиадину и эндомизию, а также специфические гистологические изменения слизистой оболочки тонкой кишки. На начальных этапах заболевания развивается гиперрегенераторная атрофия, сопровождающаяся увеличением числа интраэпителиальных лимфоцитов, углублением крипт, укорочением ворсинок, инфильтрацией подслизистого слоя лимфоцитами и плазматическими клетками. При нарастании атрофии ворсинок тонкой кишки отмечается их исчезновение.

Клиническая картина целиакии представлена диареей, спру, вздутием живота, абдоминальной болью, астеническим синдромом. По мере прогрессирования заболевания появляются признаки синдрома мальабсорбции: поливитаминовая недостаточность, дефицит железа, кальция, раннее развитие остеопороза, неврологические симптомы.

В случае несвоевременной постановки диагноза целиакии и начала лечения на поздних стадиях заболевания прогноз в отношении продолжительности и качества жизни больного неблагоприятный. Для пациентов с целиакией в большинстве случаев характерна полиморбидность, которая обусловлена, с одной стороны, наличием у таких больных определенных гаплотипов главного комплекса

гистосовместимости, которые ассоциированы с развитием аутоиммунных заболеваний (таких, как аутоиммунный тиреоидит, аутоиммунный гепатит, аутоиммунный гастрит и др.), а, с другой, системным характером проявлений недостаточности тканевой транслугтаминазы (афтозный стоматит, герпетиформный дерматит и др.) [51].

Так же, как и при других аутоиммунных заболеваниях, риск развития злокачественных новообразований органов ЖКТ, а именно, тонкой кишки, толстой кишки и пищевода, у пациентов с целиакией значительно превышает таковой в общей популяции.

Патогенетический метод лечения целиакии — исключение из рациона питания основного триггера аутоиммунного воспаления: белка глютена. При условии соблюдения рациона питания с исключением глютена возможно достижение клинической, серологической и морфологической ремиссии заболевания [52].

## Заключение

Аутоиммунные заболевания органов ЖКТ — гетерогенная группа заболеваний, объединенных сопоставимыми принципами этиопатогенеза. Учитывая наметившуюся в последние годы тенденцию к росту заболеваемости, разнообразию клинических проявлений, сложности, связанные с диагностикой и лечением таких заболеваний, эта область гастроэнтерологии является предметом интереса многих ученых и клиницистов. Результаты уже проведенных и продолжающихся исследований открывают новые возможности для диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний органов ЖКТ. Так, информация об участии в патогенезе холестатических заболеваний печени ядерных рецепторов способствовала созданию препаратов, основной эффект которых заключается во влиянии на синтез и транспорт желчных кислот как основных факторов, повреждающих гепатоциты и эпителиальные клетки желчных протоков. Обоснование участия кишечной микрофлоры в патогенезе ВЗК, наряду с накоплением знаний об иммунных реакциях, ведущих к повреждению слизистой оболочки кишки, привело к возникновению новых направлений и стратегий терапии БК и ЯК. Нельзя не упомянуть и об отношении новых видов аутоиммунных заболеваний органов ЖКТ — микроскопическом колите и IgG<sub>4</sub>-ассоциированном заболевании, которые в настоящее время остаются недостаточно изученными.

Таким образом, продолжающиеся исследования по изучению механизмов развития, этиологических факторов и особенностей течения аутоиммунных заболеваний органов ЖКТ служат основой для создания более точных и информативных диагностических тестов и методик, а также более эффективных и безопасных стратегий лечения, которые будут способствовать повышению выживаемости и улучшению прогноза пациентов.

## Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

## ЛИТЕРАТУРА

- Toh V.H. Diagnosis and classification of autoimmune gastritis. *Autoimmun Rev.* 2014; 13 (4–5): 459–462.
- Smyk D.S., Koutsoumpas A.L., Mytilinaiou M.G., Rigopoulou E.I., Sakkas L.I., Bogdanos D.P. *Helicobacter pylori* and autoimmune dis-



- ease: cause or bystander. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20 (3): 613–629.
3. Varbanova M., Frauenschläger K., Malfertheiner P. Chronic gastritis: an update. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2014; 28 (6): 1031–1042.
  4. Whittingham S., Mackay I.R. Autoimmune gastritis: historical antecedents, outstanding discoveries, and unresolved problems. *Int. Rev. Immunol.* 2005; 24 (1–2): 1–29.
  5. Lee J.Y., Kim N., Lee H.S., Oh J.C., Kwon Y.H., Choi Y.J., Yoon K.C. Correlations among endoscopic, histologic and serologic diagnoses for the assessment of atrophic gastritis. *J. Cancer Prev.* 2014; 19 (1): 47–55.
  6. Polydorides A.D. Pathology and differential diagnosis of chronic, noninfectious gastritis. *Semin Diagn. Pathol.* 2014; 31 (2): 114–123.
  7. Vannella L., Lahner E., Annibale B. Risk for gastric neoplasias in patients with chronic atrophic gastritis: A critical reappraisal. *World J. Gastroenterol.* 2012; 18 (12): 1279–1285.
  8. Егоров В.И., Кармазановский Г.Г., Щёголев А.И. Аутоиммунный панкреатит. Возможна ли предоперационная диагностика? *Клиническая и экспериментальная гастроэнтерология.* 2007; 6: 13–20.
  9. Nishimori I., Tamakoshi A., Otsuki M. Prevalence of autoimmune pancreatitis in Japan from a nationwide survey in 2002. *J. Gastroenterol.* 2007; 42 (Suppl. 18): 6–8.
  10. Matsubayashi H., Kakushima N., Takizawa K., Tanaka M., Imai K., Hotta K., Ono H. Diagnosis of autoimmune pancreatitis. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20 (44): 16559–16569.
  11. Asada M., Nishio A., Uchida K., Kido M., Ueno S., Uza N., Kiriya K., Inoue S., Kitamura H., Ohashi S., Tamaki H., Fukui T., Matsuura M., Kawasaki K., Nishi T., Watanabe N. Identification of a novel autoantibody against pancreatic secretory trypsin inhibitor in patients with autoimmune pancreatitis. *Pancreas.* 2006; 33 (1): 20–26.
  12. Frulloni L., Lunardi C., Simone R., Dolcino M., Scattolini C., Falconi M., Benini L., Vantini I., Corrocher R., Puccetti A. Identification of a novel antibody associated with autoimmune pancreatitis. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361 (22): 2135–2142.
  13. Yamamoto M., Naishiro Y., Suzuki C., Kokai Y., Suzuki R., Honda S., Abe T., Takahashi H., Shinomura Y. Proteomics analysis in 28 patients with systemic IgG4 related plasmacytic syndrome. *Rheumatol. Int.* 2010; 30 (4): 565–568.
  14. Hart P.A., Zen Y., Chari S.T. Recent Advances in Autoimmune Pancreatitis. *Gastroenterology.* 2015; 148 (3). Doi: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2015.03.010>.
  15. Chang M.C., Liang P.C., Jan S., Yang C.Y., Tien Y.W., Wei S.C., Wong J.M., Chang Y.T. Increase diagnostic accuracy in differentiating focal type autoimmune pancreatitis from pancreatic cancer with combined serum IgG4 and CA19–9 levels. *Pancreatol.* 2014; 14 (5): 366–372.
  16. Shimosegawa T., Chari S.T., Frulloni L., Kamisawa T., Kawa S., Mino-Kenudson M., Kim M.H., Kloppel G., Lerch M.M., Lohr M., Notohara K., Okazaki K., Schneider A. and Zhang L. International consensus diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis: guidelines of the International Association of Pancreatology. *Pancreas.* 2011; 40: 352–358.
  17. Chari S.T. Diagnosis of autoimmune pancreatitis using its five cardinal features: introducing the Mayo Clinic's HISORt criteria. *J. Gastroenterol.* 2007; 42 (Suppl. 18): 39–41.
  18. Hart P.A., Kamisawa T., Brugge W.R., Chung J.B., Culver E.L., Czakó L., Frulloni L., Go V.L., Gress T.M., Kim M.H., Kawa S., Lee K.T., Lerch M.M., Liao W.C., Lohr M., Okazaki K., Ryu J.K., Schleinitz N., Shimizu K., Shimosegawa T., Soetikno R., Webster G., Yadav D., Zen Y., Chari S.T. Long term outcomes of autoimmune pancreatitis: a multicentre, international analysis. *Gut.* 2013; 62 (12): 1771–1776.
  19. Huggett M.T., Culver E.L., Kumar M., Hurst J.M., Rodriguez-Justo M., Chapman M.H., Johnson G.J., Pereira S.P., Chapman R.W., Webster G.J., Barnes E. Type 1 autoimmune pancreatitis and IgG4 related sclerosing cholangitis is associated with extrapancreatic organ failure, malignancy, and mortality in a prospective UK cohort. *Am. J. Gastroenterol.* 2014; 109 (10): 1675–1683.
  20. Лейшнер У. Аутоиммунные заболевания печени и перекрестный синдром. *М.: Анахарсис.* 2005. 54 с.
  21. Blachier M., Leleu H., Peck-Radosavljevic M., Valla D.Ch., Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: A review of available epidemiological data. *J. Hepatol.* 2013; 58: 593–608.
  22. Yang F., Wang Q., Jia J., Ma X.J. Autoimmune Hepatitis: East Meets West. *Gastroenterol. Hepatol.* 2015; 30. Doi: 10.1111/jgh.12952.
  23. Oo Y.H., Hubscher S.G., Adams D.H. Autoimmune hepatitis: new paradigms in the pathogenesis, diagnosis, and management. *Hepatol. Int.* 2010; 4 (2): 475–493.
  24. Couto C.A., Bittencourt P.L., Porta G., Abrantes-Lemos C.P., Carrilho F.J., Guardia B.D., Cançado E.L. Antismooth muscle and antiactin antibodies are indirect markers of histological and biochemical activity of autoimmune hepatitis. *Hepatology.* 2014; 59: 592–600.
  25. Gatselis N.K., Zachou K., Koukoulis G.K., Dalekos G.N. Autoimmune hepatitis, one disease with many faces: etiopathogenetic, clinic-laboratory and histological characteristics. *World J. Gastroenterol.* 2015; 21 (1): 60–83.
  26. Manns M.P., Czaja A.J., Gorham J.D., Krawitt E.L., Mieli-Vergani G., Vergani D., Vierling J.M. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *J. Hepatol.* 2010; 51 (6): 2193–2213.
  27. Danielsson Borssén Å., Almer S., Prytz H., Wallerstedt S., Friis-Liby I.L., Bergquist A., Nyhlin N., Hultcrantz R., Sangfelt P., Weiland O., Lindgren S., Verbaan H., Werner M. Hepatocellular and extrahepatic cancer in patients with autoimmune hepatitis a long term follow up study in 634 Swedish patients. *Scand. J. Gastroenterol.* 2015; 50 (2): 217–223.
  28. Corpechot C., Chretien Y., Chazouilleres O., Poupon R. Demographic, lifestyle, medical and familial factors associated with primary biliary cirrhosis. *J. Hepatol.* 2010; 53 (1): 62–69.
  29. Muratori L., Granito A., Muratori P., Pappas G., Bianchi F.B. Antimitochondrial antibodies and other antibodies in primary biliary cirrhosis: diagnostic and prognostic value. *Clin. Liver Dis.* 2008; 12: 261–276.
  30. Kawata K., Kobayashi Y., Gershwin M., Bowlus Ch.L. The Immunophysiology and Apoptosis of Biliary Epithelial Cells: Primary Biliary Cirrhosis and Primary Sclerosing Cholangitis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2012; 43: 230–241.
  31. Lindor K.D., Gershwin M.E., Poupon R., Kaplan M., Bergasa N.V., Heathcote E.J. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 2009; 50 (1): 261–308.
  32. Mayo M.J. Natural history of primary biliary cirrhosis. *Clin. Liver Dis.* 2008; 12 (2): 277–288.
  33. Ивашкин В.Т., Широкова Е.Н., Маевская М.В., Павлов Ч.С., Шифрин О.С., Маев И.В., Трухманов А.С. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и Российского общества по изучению печени по диагностике и лечению холестаза. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2015; 25 (2): 40–55.
  34. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of cholestatic liver diseases. European Association for the Study of the Liver. *J. Hepatol.* 2009; 51: 237–267.
  35. Lammers W.J., van Buuren H.R., Hirschfield G.M., Janssen H.L., Invernizzi P., Mason A.L., Invernizzi P., Mason A.L., Ponsioen C.Y. Levels of alkaline phosphatase and bilirubin are surrogate end points of outcomes of patients with primary biliary cirrhosis: an international follow up study. *Gastroenterology.* 2014; 147 (6): 1338–1349.
  36. Rong G., Wang H., Bowlus C.L., Wang C., Lu Y., Zeng Z., Qu J., Lou M., Chen Y., An L., Yang Y., Gershwin M.E. Incidence and Risk Factors for Hepatocellular Carcinoma in Primary Biliary Cirrhosis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2015; 48 (2): 132–141.
  37. Karlsen T.H., Boberg K.M. Update on primary sclerosing cholangitis. *J. Hepatol.* 2013; 59 (3): 571–582.
  38. Ali A.H., Carey E.J. and Lindor K.D. Current research on the treatment of primary sclerosing cholangitis. *Intractable Rare Dis. Res.* 2015; 4 (1): 1–6.
  39. Eaton J.E., Talwalkar J.A., Lazaridis K.N., Gores G., Lindor K.D. Pathogenesis of Primary Sclerosing Cholangitis and Advances in Diagnosis and Management. *Gastroenterology.* 2013; 145 (3): 1–33.



40. Полуэктова Е.А., Ляшенко О.С., Королев А.В., Шифрин О.С., Ивашкин В.Т. Механизмы, обеспечивающие взаимодействие бактериальных клеток с организмом хозяина, и их нарушение у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2014; 24 (5): 42–53.
41. Johansson M.E., Larsson J.M., Hansson G.C. The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host microbial interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011; 108: 4659–4665.
42. Sandborn W., Rogler G. The Keys to IBD 2010: Treatment, Diagnosis and Pathophysiology. *Peprint of Digestive Disease*. 2010; 28 (3): 385–568.
43. Baumgart D.C. The diagnosis and treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2009; 106 (8): 123–133.
44. Mowat C., Cole A., Windsor A., Ahmad T., Arnott I., Driscoll R., Mitton S., Orchard T., Rutter M., Younge L., Lees C., Ho G.T., Satsangi J., Bloom S. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut*. 2011; 60 (5): 571–607.
45. Magro F., Langner C., Driessen A., Ensari A., Geboes K., Mantzaris G.J., Villanacci V., Becheanu G., Borralho Nunes P., Cathomas G., Fries W., Jouret-Mourin A., Mescoli C., de Petris G., Rubio C.A., Shepherd N.A., Vieth M., Eliakim R. European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease. *J. Crohn's Colitis*. 2013; 7 (10): 827–851.
46. Ивашкин В.Т., Шельгин Ю.А., Абдулганиева Д.И., Абдулаков Р.А., Алексеева О.П., Ачкасов С.И., Барановский А.Ю., Белоусова Е.А., Головенко О.В., Григорьев Е.Г., Костенко Н.В., Лапина Т.Л., Маев И.В., Москалев А.И., Низов А.И., Николаева Н.Н., Осипенко М.Ф., Павленко В.В., Парфенов А.И., Полуэктова Е.А., Румянцев В.Г., Тимербулатов В.М., Тertychny A.C., Ткачев А.В., Трухманов А.С., Халиф А.Л., Хубезов Д.А., Чашкова Е.Ю., Шифрин О.С., Щукина О.Б. Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и ассоциации колопроктологов России по диагностике и лечению взрослых больных язвенным колитом. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2015; 25 (1): 48–65.
47. Dignass A., Eliakim R., Magro F., Maaser Ch., Chowers Y., Geboes K., Mantzaris G., Reinisch W., Colombel J.F., Vermeire S., Travis S., Lindsay J.O., Van Assche G. Second European evidence based Consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis: Definitions and diagnosis. *J. Crohn's Colitis*. 2012; 6 (10): 965–990.
48. Sands B.E. New drugs on the horizon for IBD. *Dig. Dis*. 2014; 32 (Suppl. 1): 74–81.
49. Bohr J., Wickbom A., Hegedus A., Nyhlin N., Hultgren H.E., Tysk C. Diagnosis and management of microscopic colitis: current perspectives. *Clin. Exp. Gastroenterol*. 2014; 7: 273–284.
50. Schuppan D., Zimmer K.P. The diagnosis and treatment of celiac disease. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2013; 49 (49): 835–846.
51. Ludvigsson J.F., Bai J.C., Biagi F., Card T.R., Ciacci C., Ciclitira P.J., Green P.H., Hadjivassiliou M., Holdaway A., van Heel D.A., Kaukinen K., Leffler D.A., Leonard J.N., Lundin K.E., McGough N., Davidson M., Murray J.A., Swift G.L., Walker M.M., Zingone F., Sanders D.S. Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology. *Gut*. 2014; 63 (8): 1210–1228.
52. Pelkowski T.D., Viera A.J. Celiac disease: diagnosis and management. *Am. Fam. Physician*. 2014; 89 (2): 99–105.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Ивашкин Владимир Трофимович**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1, тел.: +7 (499) 248-35-91, e-mail: 2135833@mail.ru

**Шептулина Анна Фароковна**, аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1, e-mail: sheptulina.anna@gmail.com

**Райхельсон Карина Леонидовна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры гастроэнтерологии и диетологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова

Адрес: 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3, e-mail: kraikhelson@mail.ru

**Лосик Екатерина Александровна**, аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1, e-mail: kollezione@yandex.ru

**Ивашкин Константин Владимирович**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1, e-mail: 2135833@mail.ru

**Охлобистин Алексей Викторович**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1, e-mail: okhlobystin@mail.ru

**Баранская Елена Константиновна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1, e-mail: ebaranskaya@yandex.ru

**Полуэктова Елена Александровна**, кандидат медицинских наук, врач-гастроэнтеролог отделения хронических заболеваний кишечника и поджелудочной железы клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко УКБ № 2 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1, e-mail: polouektova@ Rambler.ru

**Шифрин Олег Самуилович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, заведующий отделением хронических заболеваний кишечника и поджелудочной железы клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко УКБ № 2 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1, e-mail: oleg\_shifrin@mail.ru

О.П. Колесникова, **О.Т. Кудяева**, Н.Н. Вольский, Е.В. Гойман, Е.Д. Гаврилова, О.М. Перминова,  
Е.Н. Демченко, В.А. Козлов

НИИ фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Российская Федерация

## Экспериментальная модель аутоиммунного процесса: роль эпигенетической изменчивости в популяции мышей-гибридов

В генетически однородной популяции мышей (гибриды F1) при индукции СКВ-подобного заболевания на основе реакции трансплантат против хозяина (РТПХ) выявляются клинические фенотипы lupus+ (гемолитическая анемия + иммунокомплексный гломерулонефрит) и lupus- (гемолитическая анемия). Механизм развития фенотипической гетерогенности обусловлен поляризацией T-хелперного ( $T_{x1}/T_{x2}$ ) иммунного ответа: преимущественной активацией  $T_{x1}$  (lupus-) или  $T_{x2}$  популяции лимфоцитов (lupus+). **Цель исследования:** оценить возможность использования экспериментальной модели аутоиммунного заболевания для изучения и тестирования эпигенетических модификаций, сдвигающих  $T_{x1}/T_{x2}$  баланс *in vivo*. **Методы:** хроническую РТПХ индуцировали введением B6D2F1 мышам-гибридам  $130 \times 10^6$  клеток селезенки от родителя DBA/2. Антитела к ДНК, IgG1, IgG2a-подклассам IgG и общий IgG оценивали с помощью иммуноферментного анализа. **Результаты:** 6–8-недельные самки мышей DBA/2 и B6D2F1 получены из экспериментально-биологической клиники лабораторных животных (Новосибирск). Установлено, что продолжительные регулярные физические нагрузки умеренной интенсивности (плавание без груза) сдвигают баланс  $T_{x1}/T_{x2}$  у реципиентов в сторону  $T_{x1}$ , т.е. в популяции достоверно уменьшается доля мышей lupus+ (с 57 до 26%;  $p < 0,001$ ), у которых достоверно снижается степень выраженности гипергаммаглобулинемии (с 2,8 до 2,0 мг/мл;  $p < 0,047$ ) и титр антител к ДНК (от 0,18 до 0,12 OD;  $p = 0,05$ ). Введение в низких дозах эпигенетического модификатора бисфенола А, имитирующего действие эстрогенов, не только увеличивает долю мышей lupus+ (с 33 до 64%;  $p < 0,001$ ), но и утяжеляет их состояние: концентрация белка у них достоверно повысилась (с 2,8 до 4,2 мг/мл;  $p < 0,001$ ). **Заключение:** эпигенетические изменения в иммунной системе, сформировавшиеся на предыдущих этапах онтогенеза у мышей-гибридов и связанные с условиями лабораторного содержания животных (двигательная активность, эндокринный статус), по-видимому, определяют соотношение активностей  $T_{x1}$  и  $T_{x2}$  субпопуляций, контролирующее выбор варианта, по которому пойдет развитие иммунного процесса в каждом конкретном случае.

**Ключевые слова:** lupus-нефрит, поляризация  $T_{x1}/T_{x2}$ , эпигенетические изменения.

(Для цитирования: Колесникова О.П., [Кудяева О.Т.], Вольский Н.Н., Гойман Е.В., Гаврилова Е.Д., Перминова О.М., Демченко Е.Н., Козлов В.А. Экспериментальная модель аутоиммунного процесса: роль эпигенетической изменчивости в популяции мышей-гибридов. Вестник РАМН. 2015; 70 (2): 152–158. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1307)

152

О.П. Kolesnikova, **О.Т. Kudaeva**, N.N. Volsky, E.V. Goiman, E.D. Gavrilova, O.M. Perminova,  
E.N. Demchenko, V.A. Kozlov

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

## The Experimental Model of Autoimmune Process: the Role of Epigenetic Variation in the Population of Mice Hybrids

**Background:** At the development of graft versus host disease in genetically homogeneous population of (C57Bl/6 x DBA/2) F1 mice two clinical phenotypes of SLE-like disease were revealed: lupus+ (immune complex glomerulonephritis and hemolytic anemia) and lupus- (hemolytic anemia). The GvHD phenotypic heterogeneity is determined by the  $T_{h1}/T_{h2}$ -polarization:  $T_{h2}$  lymphocyte predominant activity, leads to the lupus+ development, or prevalence activity of  $T_{h1}$  cells, leads to the lupus- development. **Objective:** Our aim was to evaluate the possibility of using an experimental model of autoimmune disease for studying and testing of epigenetic modifications, shifting  $T_{h1}/T_{h2}$ -balance *in vivo*. **Methods:** Chronic GVHD was induced in B6D2F1 mice by the transplantation of  $130 \times 10^6$  parental DBA/2 splenocytes. Anti-ds-DNA, total IgG and IgG1, IgG2a Abs were measured by ELISA. **Results:** Six- to 8-week-old female DBA/2 and B6D2F1 mice were obtained from Biological Research Laboratory (Novosibirsk). It was established that regular moderate physical activity (unloaded swimming) shifted  $T_{h1}/T_{h2}$  balance towards  $T_{h1}$ . This leads to a decrease in a population of recipients the lupus+ mice from 57 to 26% ( $p < 0,001$ ) with significantly reduced hypergamaglobulinemia (IgG from 2,8 to 2,0 mg/ml;  $p < 0,047$ ) and DNA antibodies titer from 0,18 to 0,12 OD ( $p = 0,05$ ). Administration of epigenetic modifier bisphenol A at low doses, which mimicking estrogen effects, enhances the proportion of lupus+ mice in experimental groups from 33 to 64% ( $p < 0,001$ ) and impairs their clinical status by the increasing the urine protein level from 2.8 to 4,2 mg/ml ( $p < 0,001$ ) in animals. **Conclusion:**  $T_{h1}/T_{h2}$ -balance presumably is determined by the immune system epigenetic modification in the experimental mice, formed on the previous stages of ontogeny and defines the direction of immune processes development in individual animal. **Key words:** experimental model, lupus-nephritis, polarization  $T_{h1}/T_{h2}$ , epigenetic changes.

(For citation: Kolesnikova O.P., [Kudaeva O.T.], Volsky N.N., Goiman E.V., Gavrilova E.D., Perminova O.M., Demchenko E.N., Kozlov V.A. The Experimental Model of Autoimmune Process: the Role of Epigenetic Variation in the Population of Mice Hybrids. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 70 (2): 152–158. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1307)

## Обоснование

Моделирование расстройств иммунитета, в т.ч. СКВ-подобного заболевания, на основе индукции реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) — иммунной реакции клеточного типа в условиях тканевой несовместимости донора и реципиента — широко используется в экспериментальных целях [1]. Концепция поляризации иммунного ответа, рассматривающая баланс Т-клеток-хелперов ( $T_{x1}/T_{x2}$ ) в качестве базисного параметра регуляции иммунных процессов [2], оказалась плодотворной при изучении регуляции иммунитета как в нормальных физиологических условиях, так и при иммунопатологических состояниях (аутоиммунные расстройства, иммунные конфликты при беременности). Накапливается все больше данных о дисбалансе  $T_{x1}/T_{x2}$ , обусловленном преимущественной дифференцировкой этих субпопуляций лимфоцитов в том или другом направлении, связанном с нарушениями эпигенетических механизмов при дифференцировке наивных CD4+ Т-клеток в  $T_{x1}$  и  $T_{x2}$  при аутоиммунных, аллергических болезнях. Так, например, у больных системной красной волчанкой (СКВ) преимущественная дифференцировка клеток в  $T_{x2}$  коррелирует с глобальным гипометилированием ДНК [3]; при астме сдвиг баланса в сторону  $T_{x2}$  коррелирует с гипометилированием ДНК, увеличением ацетилирования гистонов и повышенной экспрессией генов интерлейкинов (ИЛ) 4, 5 и 13 [4].

Одним из ярких примеров того, как эпигенетические механизмы в физиологических условиях используются для регулирования экспрессии генов в постнатальном периоде, являются CD4+ Т-лимфоциты — семейство клеток, состоящее из наивных предшественников и эффекторных подтипов ( $T_{x1}$ ,  $T_{x2}$ ,  $T_{x17}$ ,  $T_{рег}$ ). Поскольку наивные CD4+ Т-клетки дифференцируются в  $T_{x1}$  или  $T_{x2}$ , секретирующие, соответственно, интерферон (ИФН)  $\gamma$  или ИЛ 4, то экспрессия гена одного цитокина и перманентное подавление другого организованы при помощи эпигенетических механизмов [5].

При индуцировании экспериментальной модели СКВ-подобного заболевания на основе хронической РТПХ (хРТПХ) в полуаллогенной системе DBA/2→C57Bl/6хDBA/2)F1 нами было обнаружено возникновение иммунодефицита и других классических признаков болезни «трансплантат против хозяина» у всех реципиентов [6]. В то же время формирование аутоиммунной патологии (иммунокомплексного гломерулонефрита, в патогенезе которого  $T_{x2}$  играют центральную роль) наблюдали только у части животных. Используемые в наших опытах экспериментальные животные представляют собой генетически однородную группу (гибриды первого поколения от скрещивания чистых линий); трансплантируемые клетки идентичны в каждом опыте для всех реципиентов; условия содержания до переноса клеток, процедура трансплантации клеток и дальнейшее содержание животных постоянны и одинаковы. Тем не менее в эксперименте хРТПХ развивается по двум направлениям: у части мышей формируется вариант болезни с иммунокомплексным люпусоподобным гломерулонефритом, в то время как у других наблюдается клиническая картина без признаков гломерулонефрита. Во многих случаях, несмотря на стандартные условия экспериментов, обнаруживается некоторая гетерогенность результатов, что часто относят на счет несовершенства методик или их проведения. Однако, данные, полученные нами в опытах с хРТПХ, позволяют предположить, что по крайней мере часть такой гетерогенности может объясняться теми

эпигенетическими изменениями в организме лабораторных животных, которые возникли у них в период, предшествующий эксперименту. В настоящее время относительно лабораторных животных формируется взгляд, учитывающий, что, несмотря на исходную генетическую идентичность, животные в процессе онтогенеза под действием различных факторов внешней среды приобретают стабильные отличающиеся признаки посредством эпигенетических механизмов [7]. Результаты, полученные нами на модели РТПХ-индуцированного СКВ-подобного заболевания, являются одним из экспериментальных подтверждений перспективности такого взгляда на сочетание генетических и эпигенетических механизмов, обуславливающих исходную гетерогенность интактных лабораторных животных.

Целью данного исследования было оценить возможность использования экспериментальной модели аутоиммунного заболевания для изучения и тестирования эпигенетических модификаций, сдвигающих  $T_{x1}/T_{x2}$  баланс *in vivo*.

## Методы

### Дизайн исследования

Нерандомизированное контролируемое перекрестное исследование.

153

### Критерии соответствия

В опыт были включены здоровые половозрелые 6–8-недельные мыши, содержащиеся в виварии в условиях, соответствующих требованиям эксперимента. Мыши получали комбикорм, сбалансированный по потребностям в белках, жирах, углеводах, витаминах, минеральных веществах и микроэлементах в рациональных дозах.

### Условия проведения

Все эксперименты проводили в стандартных условиях соблюдения содержания животных, температурного режима, освещенности. Мышей выводили из эксперимента дислокацией позвоночника.

### Продолжительность исследования

Продолжительность исследования составила 2,5 года (с 2011 по 2014 г.).

### Исходы исследования

Исходом исследования являлось получение модели СКВ-подобного заболевания на основе индукции хронической РТПХ с последующим взятием крови в заданные интервалы времени.

### Методы регистрации исходов

РТПХ у мышей индуцировали путем переноса самкам B6D2F1 лимфоидных клеток родительской линии DBA/2 [8]. Содержание белка в моче определяли калориметрически с красителем Kumsai brilliant blue (Loba Feinchemie, Австрия) на Titertek Multiscan (Финляндия), длина волны  $\lambda = 570$  нм. В опытах использовали мышей со стойкой протеинурией и содержанием белка 3 мг/мл и более (белок в моче определяли неоднократно). Проводили морфологическое и иммуногистохимическое исследование почек [9]. Концентрацию IgG в периферической крови, содержание подклассов IgG и антител к ДНК в сыворотке крови определяли твердофазным методом иммуноферментного анализа в 96-луночных плоскодонных

**Таблица.** Характеристика гетерогенности мышей с СКВ-подобным синдромом

Параметры	T <sub>x2</sub>	T <sub>x1</sub>
Белок в моче Критерий ≥3 мг/мл	3,0–10,0	0–1,5
Морфология почек по шкале М. Mugasani и соавт. [11]	3,5	1
Спленомегалия	+++	+
Поликлональная активация В-лимфоцитов (гипергаммаглобулинемия)	+++	+
Концентрация IgG в сыворотке через 6 мес	+++	+
Антитела к ДНК	+++	+
Иммунный ответ на Т-зависимый антиген	–	–
IgM, IgG	↓	↓↓↓
Гиперчувствительность замедленного типа	↓	N
Соотношение IgG1/IgG2a	↑	↓
Уровень холестерина	↑↑↑	N
Клинические фенотипы:	Гемолитическая анемия+, иммунокомплексный гломерулонефрит	Гемолитическая анемия

планшетах (E.I.A. Linbro, США). Содержание кортикостерона в сыворотке крови мышей определяли методом конкурентного белкового связывания с использованием 3Н-кортикостерона и транскортина. Концентрацию тестостерона, прогестерона и кортикостерона в высушенных экскрементах определяли радиоиммунным методом с использованием меченных 3Н препаратов соответствующего гормона (Amersham, США) и специфических антител (Sigma, США). Экстракцию стероидов проводили этиловым эфиром [10].

**Этическая экспертиза**

Экспериментальные исследования выполнены в полном соответствии с требованиями Международной конвенции по гуманному обращению с подопытными животными (Страсбург, 1986), а также Приказом МЗ РФ № 257 «Об утверждении правил лабораторной практики» от 19.06.2003 г.

**Статистический анализ**

Статистическую обработку результатов проводили методами непараметрической статистики с использованием U-критерия Вилкоксона и теста Манна–Уитни. Предварительный анализ вариационных рядов выявил асимметричность распределения признаков. Данные представлены в виде медианы (Me). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты**

**Объект исследования**

В работе использовали мышей-гибридов первого поколения (C57Bl/6хDВА/2)F1 (B6D2F1) — самок; мышей линий DВА/2 — самок, полученных из Экспериментально-биологической клиники лабораторных животных (Новосибирск). В опытах принимали участие мыши в возрасте 2–8 мес. Все животные были распределены на группы: 2 контрольные группы — интактный (B6D2F1 мыши-гибриды) и положительный контроль (сингенный перенос — перенос клеток селезенки от B6D2F1 → B6D2F1); 2 опытные группы — с индукцией РТПХ (полуаллогенный перенос — перенос клеток селезенки от DВА/2 → B6D2F1), и воздействием в момент индукции РТПХ (плавание и введение бисфенола А).

**Основные результаты исследования**

На основании данных литературы и собственных результатов основным диагностическим критерием развития гломерулонефрита в нашей модели было выбрано стойкое наличие белка в моче более 3 мг/мл, которое определялось у животных к 10–12-й нед после индукции хРТПХ. Морфологическое и иммуногистохимическое исследование почек подтвердило существование взаимосвязи между уровнем протеинурии и степенью поражения почек в разные периоды заболевания. Так, на ранних сроках (2–3 мес) заболевания при уровне белка в моче 0,3 мг/мл наблюдаются минимальные изменения почечной паренхимы (слабая пролиферация мезангиальных клеток, пылевидные отложения IgG в почечных клубочках, незначительная белковая дистрофия канальцевого эпителия). В эти же сроки заболевания, но при протеинурии 3 мг/мл имеет место другая картина: выражена пролиферация мезангиальных клеток, базальная мембрана капиллярных петель утолщена, появляется запустевание капиллярных петель, нодулярный склероз, склероз отдельных клубочков, резко выражена белковая дистрофия эпителия извитых канальцев; отложения IgG в почечных клубочках носят линейно-глыбчатый характер. При протеинурии более 3 мг/мл на 6–7-м мес болезни в почечной ткани преобладают грубые склеротические изменения.

В дальнейшем мы формировали группы животных, основываясь на этом значении концентрации белка в моче: брали в эксперимент мышей со стойкой протеинурией (lupus+, концентрация белка ≥3 мг/мл при трехкратном определении с интервалом 1 нед) и без протеинурии, т.е. когда содержание белка в моче было на уровне контрольной интактной группы (lupus-). Для характеристики обнаруженной гетерогенности среди реципиентов в дальнейшем оценивали частоту развития lupus-нефрита и проводили сравнительное изучение параметров иммунной системы у групп lupus- и lupus+.

Установлено, что перенос мышам B6D2F1 лимфоидных клеток мышей родительской линии DВА/2 приводит к развитию у всех реципиентов хРТПХ, о чем свидетельствует наличие характерных для нее признаков: спленомегалия, гипергаммаглобулинемия, продукции аутоантител к ДНК при отсутствии выраженной атрофии тимуса. Однако течение этой реакции отличается у изучаемых групп: у мышей lupus+ показатели параметров демонстрировали более выраженные изменения; только в этой группе в тимусе определялась выраженная плазмоцитарная реакция, характерная для аутоиммунных состояний.



Наблюдали отличия и в динамике образования аутоантител к ДНК: в группе мышей, у которых впоследствии развился *lupus*-нефрит, высокие титры антител к ДНК определялись на ранних стадиях и на 2-м мес уже снижались, тогда как в группе мышей *lupus*- в это время имело место только нарастание титров, которые не достигали уровня, определяемого у мышей *lupus*+ на пике ответа. Разные варианты течения хРТПХ приводят к разным клиническим исходам, что было подтверждено морфологическим исследованием почек: степень выраженности поражения органа, оцененная по балльной шкале, у мышей *lupus*- соответствует 1 баллу, у мышей *lupus*+ — 3,5 баллам (табл.).

Изучение основных параметров иммунной системы мышей *lupus*- и *lupus*+ показало, что развитие хРТПХ сопровождается подавлением первичного иммунного ответа на Т-зависимый антиген — эритроциты барана. При этом в группе *lupus*+ наблюдается снижение как клеточных, так и гуморальных реакций, тогда как у животных группы *lupus*- более выражено подавление продукции антител при сохраненном уровне клеточного ответа (см. табл.). Поскольку у *lupus*+ мышей наблюдалась супрессия Т-клеточных реакций, мы предположили, что в группах *lupus*- и *lupus*+ преимущественно активированы разные субпопуляции хелперных Т клеток, принимающих активное участие в индукции и развитии хРТПХ (соответственно,  $T_{x1}$  клетки в первом случае и  $T_{x2}$  — во втором). Определение соотношения подклассов иммуноглобулинов  $IgG_1/IgG_{2a}$  у реципиентов в динамике развития хРТПХ выявило различия между двумя опытными группами, которые нарастали с течением времени. У *lupus*+ реципиентов было зарегистрировано увеличение относительной продукции  $T_{x2}$ -зависимого подкласса  $IgG_1$  по сравнению с мышами *lupus*-, что свидетельствует о преимущественной активации при этом варианте  $T_{x2}$  клеток. Соотношение подклассов у мышей *lupus*- оказалось ниже, чем в контроле (сыворотки от интактных мышей B6D2F1), что предполагает доминирующее влияние  $T_{x1}$  клеток.

Характерным симптомом, возникающим у мышей *lupus*+ и отсутствующим в группе мышей *lupus*-, было значительное увеличение концентрации холестерина в сыворотке крови, что соответствует аналогичному изменению этого биохимического показателя у больных СКВ. Гиперхолестеринемия развивалась у мышей *lupus*+ одновременно с появлением протеинурии и сохранялась, постепенно снижаясь, на протяжении многих месяцев (рис. 1).

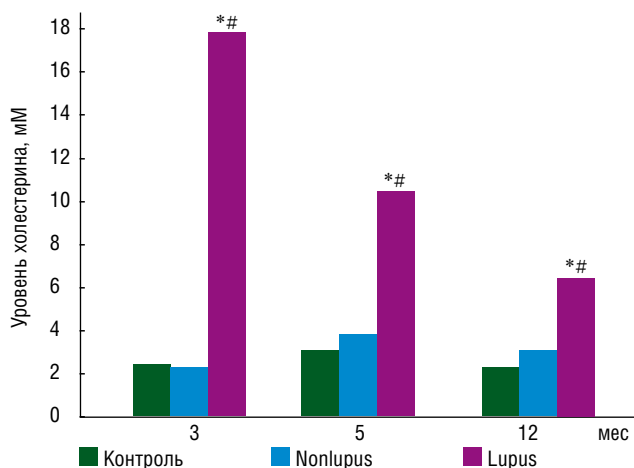


Рис. 1. Концентрация холестерина в сыворотке крови у мышей в различные сроки после индукции хронической РТПХ.

Примечание. \* и # — достоверные отличия ( $p < 0,05$ ) от контроля и группы *lupus*-, соответственно.

У мышей обеих групп по мере развития хРТПХ обнаруживалось увеличение содержания свободной ДНК в плазме крови. К моменту окончательного формирования групп *lupus*- и *lupus*+ на сроке 3 мес от начала индукции хРТПХ у мышей *lupus*- концентрация свободной ДНК возросла в 1,4 раза, у мышей *lupus*+ — в 2,2 раза относительно контрольных значений (рис. 2).

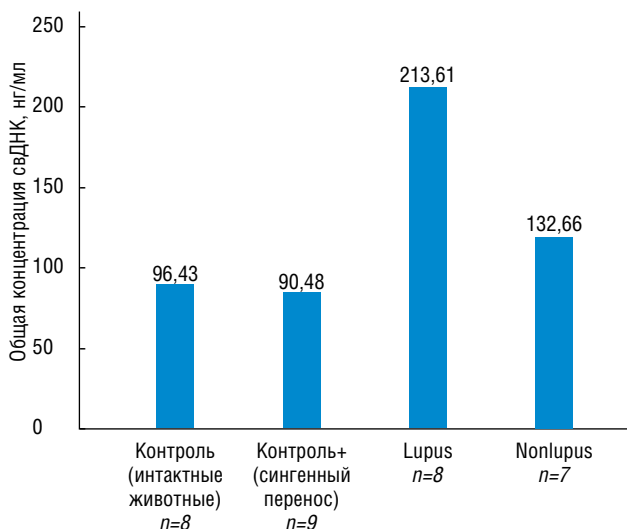
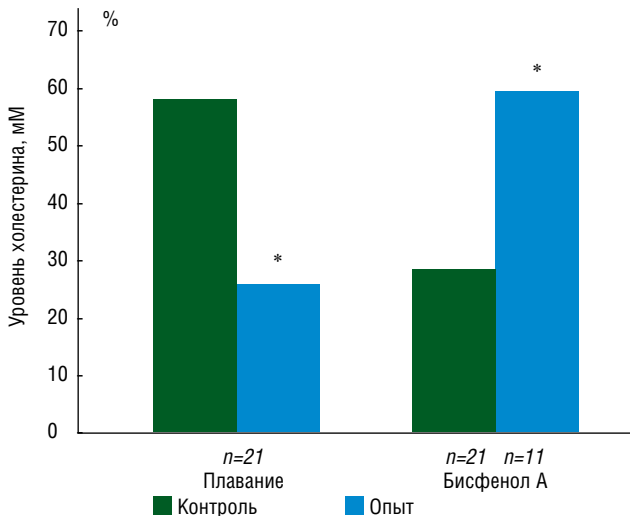


Рис. 2. Содержание свободной ДНК в плазме крови мышей BDF1 через 3 мес после индукции хронической РТПХ.

Примечание. Статистических изменений не выявлено ( $p > 0,05$ ).

Из множества причин, способных вызывать стойкие сдвиги  $T_{x1}/T_{x2}$  баланса и приводить к фенотипической разнородности исходов развивающегося иммунопатологического процесса, мы исследовали самые, на наш взгляд, вероятные в условиях стандартного лабораторного содержания животных: двигательную активность и эндокринный статус. Для выяснения вопроса о разном уровне двигательной активности как одной из возможных причин, определяющих особенности поляризации  $T_{x1}/T_{x2}$ , предварительно было изучено влияние регулярных физических нагрузок средней интенсивности (плавание без груза в течение 1, 2 и 4–5 ч), но с минимальным стрессорным эффектом на состояние иммунной системы. Исследования проводили после того, как животные привыкали к процедуре, т.е. не ранее чем через 1–2 мес. Не было обнаружено достоверного повышения концентрации кортикостерона в периферической крови животных, подвергавшихся плаванию в течение 2 ч 5 раз/нед на протяжении 2–3 мес (у контрольных мышей содержание кортикостерона составило 35,0 нг/мл, у мышей-пловцов — 35,5 нг/мл). Мышей-самок B6D2F1 подвергали ежедневному плаванию в течение продолжительного периода: по 2 ч 5 дней в неделю на протяжении 2–3 мес до индукции и 3 мес — после индукции хРТПХ. Оказалось, что регулярное продолжительное плавание снижает вероятность формирования аутоиммунной патологии в процессе развития хРТПХ (рис. 3). Помимо общего снижения (более чем в 2 раза) доли *lupus*+ реципиентов и, соответственно, снижения уровня протеинурии при регулярных физических тренировках умеренной интенсивности (3,86 мг/мл у мышей с хРТПХ и 2,48 мг/мл у мышей с хРТПХ при физических нагрузках;  $p < 0,035$ ) отмечалось достоверное уменьшение гипергаммаглобулинемии (концентрация общего  $IgG$  снизилась с 2,8 до 2,0 мг/мл;  $p < 0,047$ ) и падения титра антител к ДНК у *lupus*+ пловцов по сравнению

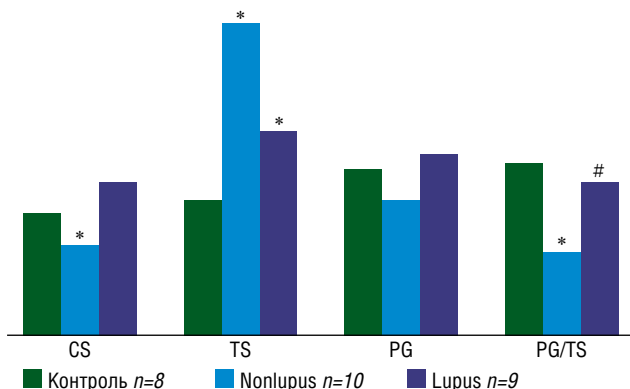


**Рис. 3.** Частота развития lupus-нефрита у мышей после физических нагрузок и введения бисфенола *per os*.  
Примечание. \* — достоверные отличия ( $p < 0,05$ ) от контроля.

с lupus+ мышами без регулярных физических тренировок (с 0,18 до 0,12 OD;  $p = 0,05$ ).

Для характеристики эндокринного статуса реципиентов проводили морфологическое изучение надпочечников lupus- и lupus+ мышей в конце эксперимента (6 мес после индукции хРТПХ). Данные морфометрического исследования надпочечников позволяют считать, что группа lupus+ характеризуется усиленной (по сравнению с lupus-) продукцией глюкокортикоидных и половых гормонов в течение предшествующего периода, когда происходило развитие хРТПХ и формирование lupus-нефрита. Сравнение уровня развивающейся впоследствии протеинурии и концентрации кортикостерона в сыворотке крови опытных мышей демонстрирует корреляцию, но она не достигает уровня статистической значимости ( $r = 0,54$ ;  $p > 0,05$ ).

Поскольку процедура прижизненного взятия достаточного большого объема периферической крови (200–300 мкл) является травмирующей и стрессирующей для таких мелких животных, как мыши, в дальнейшем мы определяли содержание гормонов в высушенных фекалиях, что, учитывая роль кишечника как основного пути выведения продуктов метаболизма нейтральных стероидов у



**Рис. 4.** Содержание гормонов у мышей с СКВ-синдромом.  
Примечание. Представлены концентрации кортикостерона (CS), тестостерона (TS) и прогестерона (PG). Абсолютные значения концентраций разных гормонов и отношение уровней прогестерона и тестостерона даны в разном масштабе, чтобы сравнить степень их изменения в пределах одного рисунка. \* и # — достоверные отличия ( $p < 0,05$ ) от контроля и группы lupus-, соответственно.

грызунов, адекватно отражает их содержание в организме. Значение содержания гормонов при этом демонстрирует не их одномоментную концентрацию, как в случае определения содержания в периферической крови, а средний уровень на протяжении 12 ч. Полученные результаты (рис. 4) свидетельствуют о выраженных отличиях гормонального статуса lupus- и lupus+ реципиентов. Первые характеризуются сниженным содержанием кортикостерона и более низким отношением уровня женских половых гормонов к мужским. Обращает на себя внимание резкое повышение концентрации тестостерона у животных с хРТПХ по сравнению с контрольной группой. Группа lupus+ отличается также повышенным соотношением женских половых стероидов по отношению к мужским. Как видно из рис. 3, введение низких доз бисфенола А (2,5 мкг/кг) *per os* мышам-реципиентам в течение первых 2 нед после индукции хРТПХ увеличивало частоту развития гломерулонефрита до 63,6% по сравнению с 33,3% в контрольной группе ( $p < 0,001$ ). При этом утяжеляется состояние животных: протеинурия у них достоверно увеличивается с 2,8 до 4,2 мг/мл ( $p < 0,001$ ).

### Обсуждение

При воспроизведении описанного в литературе метода индукции экспериментальной модели СКВ-подобного заболевания на основе хРТПХ установлено, что, несмотря на стандартные условия проведения реакции, генетическую однородность реципиентов, формирование аутоиммунной патологии — иммунокомплексного гломерулонефрита — воспроизводится только у части животных. Более того, при введении клеток селезенки от донора реципиенту в полуаллогенной системе — от родителя DBA/2 потомству, гибридам первого поколения (C57Bl/6xDBA/2)F1 — у животных обнаруживаются различные клинические проявления, обозначенные как lupus- и lupus+ и, соответственно, связанные с превалирующей активностью  $T_{x1}$  или  $T_{x2}$  субпопуляций. Интересно отметить, что в отдельных статьях указано на то, что процент формирования lupus-нефрита в экспериментах редко достигал 100%; в некоторых случаях для увеличения процента нужной патологии прибегали к использованию дополнительных усиливающих воздействий [12]. Однако в ходе экспериментов «неудачные» реципиенты просто удаляются из опытной группы и не изучаются далее. При попытке использовать таких «неудачных» реципиентов в качестве своеобразного дополнительного контроля мы обнаружили, что на самом деле иммунопатологический процесс развивается и у этих животных, но идет каким-то особым путем. Поскольку у lupus+ мышей, в отличие от lupus-, имела место супрессия Т-клеточных реакций, мы предположили, что в опытных группах lupus- и lupus+ преимущественно активированы разные субпопуляции Т-хелперных клеток, принимающих активное участие в индукции и развитии хРТПХ (соответственно,  $T_{x1}$  клетки в первом случае и  $T_{x2}$  — во втором). Учитывая, что содержание в сыворотке крови цитокинов, продуцируемых этими клетками, подвержено большим колебаниям, зависит от многих факторов и может не отражать активацию той или другой субпопуляции при однократном измерении, для проверки данного предположения было изучено соотношение подклассов IgG сыворотки крови реципиентов как интегральный показатель активации  $T_{x1}$  или  $T_{x2}$  лимфоцитов, т.к. известно, что  $T_{x1}$ -зависимый иммунный ответ характеризуется увеличением содержания IgG<sub>2a</sub>, тогда как продукция  $T_{x2}$  цитокинов сопровождается повышением концентрации IgG<sub>1</sub> [13]. Эти

данные, а также характер изменения соотношения подклассов IgG в сторону  $T_{x1}$ -зависимого подкласса  $IgG_{2a}$  в группе lupus- и в сторону  $T_{x2}$ -зависимого подкласса  $IgG_1$  в группе lupus+ позволяют сделать вывод о сдвиге баланса T клеток-хелперов при индукции хРТПХ в сторону  $T_{x1}$  в случае lupus- варианта и в сторону  $T_{x2}$  — в случае lupus+. Главное отличие по иммунным параметрам у мышей lupus- и lupus+ — разное соотношение  $T_{x1}/T_{x2}$  субпопуляций — представлено клиническими фенотипами: у мышей lupus- выявляется только гемолитическая анемия, у мышей lupus+ — гемолитическая анемия в сочетании с иммунокомплексным гломерулонефритом [14].

Нарушения холестерина метаболизма, обнаруженные только у мышей lupus+, могут быть обусловлены, по нашему предположению, снижением активации ядерных рецепторов LXR (liver X ресептор) при поглощении клетками больших количеств иммунных комплексов. Как было установлено [15], фагоцитоз иммунных комплексов клетками приводит к подавлению в них активности холестерол-27-гидроксилазы — фермента, продуцирующего основной физиологический лиганд LXR. Поскольку LXR играют ключевую роль в регуляции обмена холестерина в организме, уменьшение степени их активации в результате низкой концентрации лиганда может приводить к нарушениям обмена холестерина и гиперхолестеринемии. Таким образом, предполагается, что как развитие аутоиммунного гломерулонефрита, так и гиперхолестеринемия у мышей lupus+ обусловлены одной и той же причиной — резким возрастанием продукции аутоантител и повышением содержания иммунных комплексов, отлагающихся в тканях. У мышей lupus- количество образующихся иммунных комплексов существенно ниже, и потому данные симптомы не развиваются. Увеличенное содержание свободной ДНК у мышей lupus+ и lupus- в экспериментальной модели находит подтверждение у больных СКВ. У больных в отличие от здоровых лиц найден ряд аномалий количества и эпигенетического статуса ДНК: определяется повышенная концентрация экстрацеллюлярной ДНК, которая представлена в виде фрагментированной, некротической ДНК, выявляется ДНК в составе иммунных комплексов, в IgG-связанной фракции плазмы крови, гипометилированная апоптотическая ДНК, что позволяет связать эти изменения с патологическими процессами в иммунной системе и органах-мишенях [16]. Достоверное уменьшение доли lupus+ реципиентов, а также достоверное снижение уровня протеинурии, гипергаммаглобулинемии и падение титра антител к ДНК у lupus+ пловцов по сравнению с lupus+ мышами без плавания свидетельствует о возможности с помощью регулярных физических тренировок умеренной интенсивности изменять условия поляризации  $T_{x1}/T_{x2}$  в организме, сдвигая  $T_{x1}/T_{x2}$  соотношение в сторону  $T_{x1}$ , и тем самым препятствовать развитию иммунокомплексного гломерулонефрита, уменьшать частоту lupus+ варианта.

Среди факторов, обуславливающих развитие у генетически однородных реципиентов разных вариантов хРТПХ, могут быть разные условия жизни животных на предшествующем отрезке онтогенеза: число мышат в помете, небольшие различия в содержании, количество пищи при вскармливании. В вивариях мыши содержатся по 5–10 особей в клетке, при этом между ними устанавливается определенная социальная иерархия, что может вызывать разный уровень комфорта или стресса. Отличающиеся по социальному статусу особи обладают различным уровнем двигательной активности, что также может определять особенности функционирования

других физиологических систем. Полученные результаты, свидетельствующие о выраженных отличиях уровня кортикостерона, отношения уровня женских половых гормонов к мужским у lupus- и lupus+ мышей, позволяют считать, что гормональный статус может служить причиной различного функционального состояния иммунных параметров, в частности, сложившегося к моменту индукции хРТПХ баланса  $T_{x1}/T_{x2}$ . Данные о повышенном соотношении женских половых стероидов к мужским в группе lupus+ соответствуют многочисленным клиническим наблюдениям о преимущественном развитии у женщин системной красной волчанки (соотношение между мужчинами и женщинами в отношении СКВ достигает 1:9) [17]. Подтверждением обнаруженной закономерности могут служить данные, полученные при изучении влияния бисфенола А, обладающего способностью связываться с рецепторами эстрогена и имитировать действие эстрогенов: бисфенол А не только увеличивает число мышей lupus+, но и утяжеляет их состояние: уровень белка в моче у них достоверно увеличивается. Известно, что бисфенол А широко используется в производстве многочисленных бытовых предметов из пластмассы, имитирует эндогенные гормоны и вследствие этого рассматривается как соединение, вызывающее нарушения эндокринных функций, а также гипометилирование ДНК [18].

Вопросы, связанные с возможными долгосрочными влияниями различных факторов как внешней, так и внутренней среды на определяющие параметры иммунной системы, в настоящее время активно исследуют. Хорошо изучены эпигенетические механизмы, приводящие к дифференцировке T клеток-хелперов в разные субпопуляции на молекулярном уровне, однако связать эти процессы с воздействиями, оказывающими свое влияние на целостный организм, удается пока в основном только теоретически. Предлагаются модельные системы для изучения этих вопросов, но они, как правило, касаются воздействий *in vitro*. Представленная нами модель СКВ-подобного заболевания позволяет исследовать воздействия, вызывающие эпигенетические изменения в ключевых параметрах иммунной системы, на уровне целостного организма.

### Заключение

Изученная в работе модель поляризации  $T_{x1}/T_{x2}$ -иммунного ответа на основе хронической РТПХ в полуаллогенной системе DBA/2 → (C57Bl/6xDBA/2), приводящая к формированию разных клинических исходов, представляет собой чувствительную к воздействиям систему, которая может использоваться для изучения механизмов формирования иммунопатологических состояний и тестирования препаратов, потенциально селективных в отношении воздействия на  $T_{x1}$ - или  $T_{x2}$ -зависимые иммунные процессы и влияющих на баланс  $T_{x1}/T_{x2}$  субпопуляций *in vivo*. Поскольку эпигенетические модификации потенциально обратимы, то модель пригодна для изучения эффектов различных эпигенетических воздействий на баланс  $T_{x1}/T_{x2}$  — один из ключевых параметров регуляции иммунных процессов — у конкретных особей на уровне целостного организма.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки/конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.



## ЛИТЕРАТУРА

- Eisenberg R., Via C. T cells, murine chronic graft-versus-host disease and autoimmunity. *J. Autoimmun.* 2012; 39: 240–247.
- Cher D., Mosmann T. Two types of murine helper T cell clone. II. Delayed-type hypersensitivity is mediated by TH1 clones. *J. Immunol.* 1987; 138: 3688–3694.
- Szyf M. Epigenetic therapeutics in autoimmune disease. *Clin. Rev. Allerg. Immunol.* 2010; 39 (1): 62–77.
- van Panhuys N., Le Gros G., McConnell J. Epigenetic regulation of Th2 cytokine expression in atopic diseases. *Tissue Antigens.* 2008; 72 (2): 91–97.
- Sanders V., Epigenetic regulation of Th1 and Th2 cell development. *Brain Behav. Immun.* 2006; 20: 317–324.
- Via C., Shearer G. T cell interactions in autoimmunity: insights from a murine model of graft-versus-host disease. *Immunol. Today.* 1988; 9: 207–213.
- Anway M., Cupp A.S., Uzumcu M., Skinner M. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science.* 2005; 308: 1466–1469.
- Kimura M., Gleichmann E. Depressed antibody responses to exogenous antigens in mice with lupus-like graft-versus-host disease. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1987; 43 (1): 97–109.
- Колесникова О.П., Кудяева О.Т., Логинов В.А., Робинсон М.В., Колесникова С.М., Козлов В.А. Показатели эритро- и иммунопоэза в развитии аутоиммунных заболеваний, индуцированных хронической реакцией трансплантат против хозяина. *Вестник АМН СССР.* 1991; 12: 13–16.
- Герлинская Л.А., Мошкин М.П., Евсиков В.И. Методические аспекты определения уровня стресса у диких животных. *Экология.* 1993; 1: 97–100.
- Muracami M., Yoshioka H., Shirai T., Tsubata T., Honjo T. Prevention of autoimmune symptoms in autoimmune-prone mice by elimination of B-1 cells. *Int. Immunol.* 1995; 7 (5): 877–882.
- Nikolic B., Lee S., Bronson R.T., Grusby M., Sykes M. Th1 and Th2 mediate acute graft-versus-host disease, each with distinct end-organ targets. *J. Clin. Invest.* 2000; 105: 1289–1298.
- Morris S., Madden K., Adamovicz J., Gause W., Hubbard B., Gately M., Finkelman F. Effects of IL-12 on in vivo cytokine gene expression and Ig isotype selection. *J. Immunol.* 1994; 152: 1047–1056.
- Сухенко Т.Г., Колесникова О.П., Филимонов П.Н., Козлов В.А. Состояние иммуно- и эритропоэза у мышей с болезнью трансплантат против хозяина на фоне иммунодефицита. *ЖМЭИ.* 1999; 4: 56–60.
- Reiss A.B., Awadallah N.W., Malhotra S., Montesinos M.C., Chan E.S., Javitt N.B., Cronstein B.N. Immune complexes and IFN- $\gamma$  decrease cholesterol 27-hydroxylase in human arterial endothelium and macrophages. *J. Lipid Res.* 2001; 42: 1913–1922.
- Chan R., Jiang P., Peng X., Tam L-S., Liao G., Li E. et al. Plasma DNA aberrations in systemic lupus erythematosus revealed by genomic and methylomic sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2014; 111 (49): 5302–5311.
- Whitacre C. Sex differences in autoimmune disease. *Nat. Immunol.* 2001; 2: 777–780.
- Waiserman A. Early-life exposure to endocrine disrupting chemicals and later-life health outcomes: an epigenetic bridge? *Ading Dis.* 2014; 5 (6): 419–429.

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Колесникова Ольга Петровна**, доктор медицинских наук, руководитель лаборатории экспериментальной иммуно-терапии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии

Адрес: 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14, тел.: +7 (383) 222-06-72, e-mail: iscreen2001@mail.ru

**Кудяева Ольга Тимофеевна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии

**Вольский Николай Николаевич**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии

Адрес: 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14, тел.: +7 (383) 222-06-72, e-mail: dtheory@yandex.ru

**Гойман Елена Владимировна**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии

Адрес: 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14, тел.: +7 (383) 222-06-72, e-mail: l.goiman@mail.ru

**Гаврилова Елена Давидовна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии

Адрес: 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14, тел.: +7 (383) 222-06-72, e-mail: edav.gavr@mail.ru

**Перминова Ольга Михайловна**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии

Адрес: 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14, тел.: +7 (383) 222-06-72, e-mail: pom.57@yandex.com

**Демченко Елена Николаевна**, кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии

Адрес: 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14, тел.: +7 (383) 222-06-72, e-mail: elena.demchenko@gmail.ru

**Козлов Владимир Александрович**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор НИИ фундаментальной и клинической иммунологии

Адрес: 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14, тел.: +7 (383) 222-26-74, e-mail: vakoz40@yandex.ru

# Поиск мишеней для таргетной терапии аутоиммунных заболеваний в дерматологии

*Пузырчатка — тяжелое, потенциально летальное заболевание, обусловленное продукцией десмоглеиновых антител и иммуноопосредованной регуляцией T-клеточных популяций. Традиционное лечение, включающее системные глюкокортикоиды в виде монотерапии или в комбинации с другими иммуносупрессивными препаратами, вызывает ряд серьезных нежелательных эффектов, а также неэффективно при резистентных к системной терапии формах заболевания. В статье представлены современные данные о патогенезе пузырчатки, рассмотрен механизм действия препарата химерных моноклональных антител к CD20 антигену В лимфоцитов ритуксимаба. Приведены результаты метаанализов клинических исследований по изучению эффективности ритуксимаба у больных пузырчаткой. Также обсуждаются потенциальные мишени для биологической терапии пузырчатки.*

**Ключевые слова:** пузырчатка, аутоиммунность, ритуксимаб, таргетная терапия, цитокины, T лимфоциты, CD20 В лимфоциты.

*(Для цитирования:* Кубанова А.А., Карамова А.Э., Кубанов А.А. Поиск мишеней для таргетной терапии аутоиммунных заболеваний в дерматологии. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (2): 159–164. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1308)

## Актуальность

Аутоиммунные заболевания включают более 80 нозологических форм и относятся к числу наиболее распространенных и тяжелых болезней человека, частота которых в популяции составляет 5–8%. Распространенность аутоиммунных заболеваний кожи невелика: по данным официальных государственных статистических наблюдений, в Российской Федерации не превышает 42 тыс. случаев, т.е. не более 0,03% населения страны. Ежегодно регистрируют около 8 тыс. новых случаев аутоиммунных болезней кожи, которые включают группы буллезных дерматозов, заболевания соединительной ткани и васкулиты [1].

Одним из тяжелых потенциально летальных заболеваний аутоиммунной природы в дерматологии является пузырчатка, которая характеризуется неуклонно прогрессирующим течением при отсутствии адекватной терапии. Пузырчатка представляет собой аутоиммунное заболевание кожи и/или слизистых оболочек, клинически характеризующееся образованием пузырей и эрозий, гистологически — интраэпидермальными пузырями, обусловленными акантолизом. В развитии акантолиза важ-

ная роль принадлежит циркулирующим аутоантителам класса G к поверхностным белкам кератиноцитов, вызывающим нарушение строения и функций десмосом [2].

Средний возраст постановки диагноза пузырчатки составляет 40–60 лет, однако описаны случаи ее развития у детей и людей пожилого возраста [3–5]. Этот вид дерматоза характеризуется относительно неблагоприятным прогнозом: по данным некоторых авторов, летальность при пузырчатке варьирует от 4,8 до 54% в зависимости от возраста пациентов и ряда других факторов [6, 7].

Следует отметить более высокую заболеваемость среди лиц с еврейскими корнями, в частности, относящихся к группе ашкенази. Высокие цифры заболеваемости также зарегистрированы в Японии и Индии. Анализ эпидемиологических исследований пузырчатки показал, что заболеваемость выше среди популяций, проживающих в низких географических широтах [4].

По результатам клинических исследований получены данные о наличии у больных пузырчаткой корреляции между несколькими аллелями HLA класса II (например, DRB1\*04, DRB1\*08, DRB1\*14) и заболеванием, что свидетельствует о генетической восприимчивости к вульгарной пузырчатке. Установлена высокая частота ряда поли-

A.A. Kubanova, A.E. Karamova, A.A. Kubanov

State Research Centre of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russian Federation

## Future Therapeutic Targets in Management of Autoimmune Skin Diseases

*Pemphigus is a severe, potentially fatal bullous skin disease, caused by desmoglein autoantibody production and immune-mediated regulation of T-cells subsets. Conventional therapy including systemic corticosteroids with or without other immunosuppressants causes numerous adverse effects and becomes inefficient in refractory patients. In this work, the authors showed a modern view on the pathogenesis of pemphigus. This article describes the detailed action mechanism of rituximab, a chimeric monoclonal antibody directed against CD20 antigen of B-cells. The authors conduct the results of meta-analyses of rituximab's efficiency in pemphigus patients. Moreover, in this article, the authors consider new promising treatment options and potential targets for biological therapy of pemphigus diseases.*

**Key words:** pemphigus, autoimmunity, rituximab, targeted therapy, cytokines, T-cells, CD20 B-cells.

*(For citation:* Kubanova A.A., Karamova A.E., Kubanov A.A. Future Therapeutic Targets in Management of Autoimmune Skin Diseases. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (2): 159–164. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1308)

морфизмов HLA-II в определенных этнических группах [8–10].

По данным литературы, заболеваемость пузырчаткой в зарубежных странах варьирует от 0,08 до 1,6 на 100 тыс. населения в год. Так, заболеваемость этим дерматозом в Финляндии составляет 0,076, во Франции — 0,155–0,17, в Италии — 0,3, в Тунисе — 0,67 на 100 тыс. населения в год [11, 12].

Заболеваемость пузырчаткой населения в возрасте 18 лет и старше в Российской Федерации в 2012 г. составила 2,4, в 2013 г. — 2,1 на 100 тыс. населения соответствующего возраста. Распространенность патологии среди населения в возрасте 18 лет и старше в Российской Федерации в 2012 г. составила 6,3, в 2013 г. — 5,5 на 100 тыс. населения соответствующего возраста. Под диспансерным наблюдением в 2013 г. состояли 44% больных пузырчаткой.

Клиническая картина вульгарной пузырчатки характеризуется образованием пузырей размером от 1–2 мм до 10 см и более тонкой покрывкой, прозрачным или мутным содержимым, овальной, грушевидной или неправильной формы на видимо неизмененных слизистых оболочках зева, щек (преимущественно в ретромолярной области), боковой поверхности языка, твердого и мягкого неба, подъязычной области, гортани, глотки, пищевода. Примерно в 50% случаев заболевание начинается на слизистой оболочке полости рта. Пузыри, быстро вскрываясь, образуют легко кровоточащие эрозии. При распространении процесса на кожу пузыри могут появляться на любом участке кожного покрова (чаще на волосистой части головы, лице, в подмышечных областях). Пузыри с тонкой покрывкой различной величины располагаются на внешне неизменной коже, легко вскрываются с образованием эрозий ярко-красного цвета с блестящей влажной поверхностью, окаймленных обрывками эпителия.

Гистологическая картина заболевания характеризуется типичным межклеточным отеком в нижних слоях эпидермиса с супрабазальным акантолитическим нарушением целостности и образованием пузырей. Нередко в пузырьках обнаруживается нейтрофильная и эозинофильная инфильтрация. На более поздних стадиях в гистологической картине доминируют неспецифические воспалительные процессы.

Для пузырчатки специфичны описанные Тцанком в 1947 г. акантолитические пемфигусные клетки, взятые из основания свежего пузыря. Они представляют собой акантолитические эпидермальные клетки, для которых характерны малое число или отсутствие межклеточных связей, зона перинуклеарного просветления вокруг базофильного бесструктурного ядра [13].

### Патогенез

Основными патогенетическими звеньями пузырчатки являются продукция антидесмоглеиновых антител и иммуноопосредованная регуляция Т-клеточных популяций [14].

Десмоглеин-1 и десмоглеин-3 — гликопротеины массой 130 и 160 кДа, соответственно, входящие в состав десмосом — структур, обеспечивающих адгезионный контакт между клетками эпидермиса (рис. 1) [15]. Десмоглеин-1 главным образом обнаруживается в коже, и его содержание возрастает от базального к супрабазальным слоям. Десмоглеин-3 широко представлен во всех слоях эпителия слизистых оболочек.

Формирование супрабазальных пузырей на слизистых оболочках у пациентов с вульгарной пузырчаткой обусловлено образованием антител к десмоглеину-3. Кожные поражения при вульгарной пузырчатке являются

160

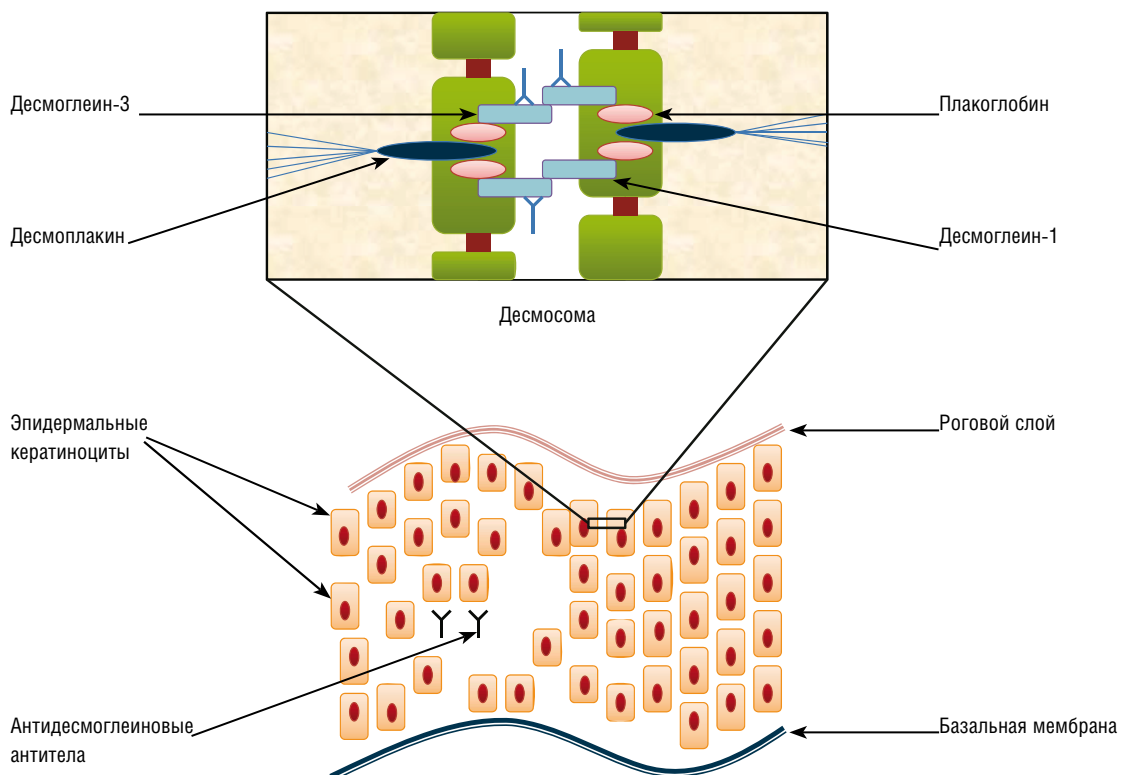


Рис. 1. Локализация десмоглеина-1 и десмоглеина-3 в десмосомах кератиноцитов.



следствием действия антител как к десмоглеину-1, так и к десмоглеину-3 [16].

Ведущую роль в контроле центральной иммунореактивности Т клеток выполняет тимус, обеспечивающий регуляцию экспрессии аутоантигенов. При этом важную роль играет фактор транскрипции — так называемый аутоиммунный регулятор (autoimmune regulator, AIRE), который контролирует экспрессию практически всех аутоантигенов, включая десмоглеин-3 [17]. Экспрессия десмоглеина-3 тимусом определяет негативную селекцию Т клеток. В настоящее время достоверно не установлено, происходит ли развитие аутореактивности Т клеток на центральном уровне либо на периферии, где важную роль могут играть CD4+CD20+-регуляторные Т клетки ( $T_{per}$ ).  $T_{per}$  опосредуют периферическую толерантность Т клеток через фактор транскрипции Foxp3, дефицит которого запускает процессы пролиферации аутореактивных Т клеток, в конечном итоге приводящие к развитию аутоиммунных заболеваний [10, 18].

Представление антигена десмоглеина-3 на поверхности антигенпрезентирующих клеток направлено на  $T_{x1}$ ,  $T_{x2}$ ,  $T_{x17}$  и фолликулярные Т клетки ( $T_{фк}$ ). Указанные клетки, в свою очередь, опосредованно, путем секреции цитокинов, активируют В клетки и влияют на синтез антидесмоглеиновых антител.  $T_{x1}$  секретируют интерферон (ИФН)  $\gamma$ , интерлейкины (ИЛ) 2, 12;  $T_{x2}$  — ИЛ 4, 5, 6, 10, 13;  $T_{x17}$  — ИЛ 17, 21, 22, 26, воздействующие на В клетки (рис. 2). При этом сами кератиноциты выделяют фактор некроза опухоли (ФНО)  $\alpha$  и ИЛ 1, усугубляющие потерю десмосомальной адгезии и принимающие участие в образовании пузырей [10].

Цитокины, выделяемые  $T_{x1}$  (например, ИФН  $\gamma$ ), способны индуцировать синтез антидесмоглеиновых IgG1 и IgG2, тогда как продукция подтипов IgG4 и IgE опосредована активацией  $T_{x2}$  [10, 19].

Указанные выше цитокины играют ключевую роль в аутореактивности В клеток, снижая или повышая их активность. Далее В клетки могут трансформироваться в плазматические клетки, которые секретируют высокоаффинные антитела к десмоглеину-3 [10].

Особое место в патогенезе пузырчатки занимает недавно изученная группа Т клеток-хелперов  $T_{x17}$ , которые принципиально отличаются от  $T_{x1}$  и  $T_{x2}$ . Они секретируют ИЛ 17, 17F, 22, а для их собственной дифференциации требуется ряд других цитокинов. В нескольких исследованиях было обнаружено повышенное содержание  $T_{x17}$  в сыворотке крови и коже больных пузырчаткой [20, 21]. В исследовании R.C. Xu выявлено значительное увеличение популяции  $T_{x17}$  у больных пузырчаткой по сравнению со здоровыми добровольцами. Еще более значительное повышение содержания  $T_{x17}$  наблюдали у больных с обострением дерматоза, т.е. установлена корреляция между содержанием  $T_{x17}$  и ИЛ 17 и степенью остроты дерматоза. Авторы полагают, что  $T_{x17}$  могут оказаться одной из причин аутоиммунного процесса [10, 22].

### Лечение пузырчатки

Основным средством, позволяющим добиться положительных терапевтических результатов у больных пузырчаткой, являются системные глюкокортикоиды, которые назначают в виде монотерапии и в сочетании с другими иммуносупрессивными препаратами.

Впервые глюкокортикоиды были использованы в лечении больных истинной акантолитической пузырчаткой в 1951 г. [23]. До введения терапии системными глюкокортикоидами смертность больных пузырчаткой достигала 50% [24]. Если пациент выживал в течение года после постановки диагноза, достоверность диагноза ставилась

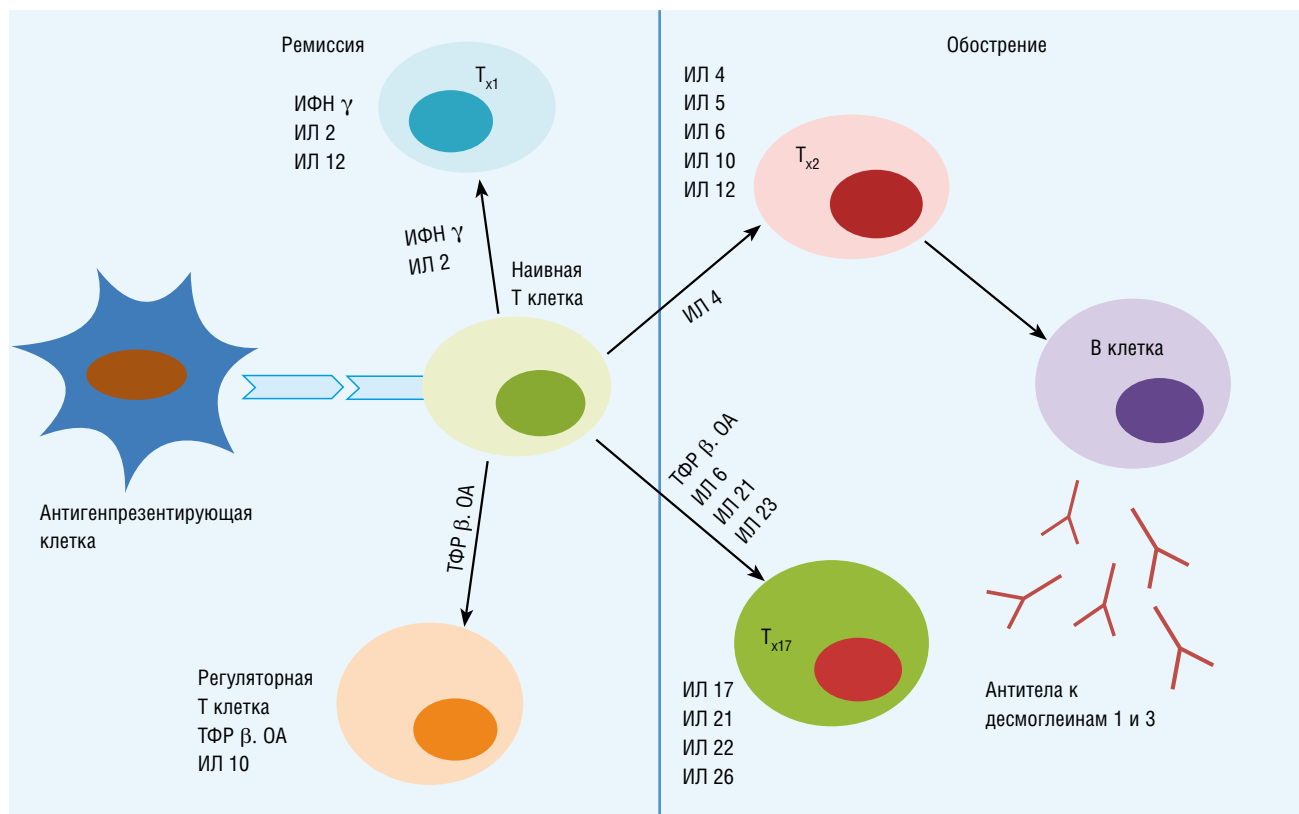


Рис. 2. Модель патогенеза вульгарной пузырчатки при ремиссии и при обострении заболевания.

Примечание. ИФН  $\gamma$  — интерферон  $\gamma$ , ИЛ — интерлейкин, ТФР  $\beta$  — трансформирующий фактор роста  $\beta$ , ОА — остеоартрит.

под сомнение. С внедрением терапии системными глюкокортикоидами в 1950-х гг. и иммунодепрессантами (циклоспорином, азатиоприном, метотрексатом, микофенолат мофетилом, циклофосфамидом) в 1960-х гг. прогноз заболевания постепенно улучшился. С целью контроля развития аутоиммунного процесса используют лечение глюкокортикоидами в течение длительного периода. Отмена гормональной терапии или быстрое снижение доз препаратов до минимальных в большинстве случаев приводит к рецидиву заболевания даже после длительной клинической ремиссии на поддерживающей дозе [25, 26]. Однако длительное применение препаратов указанных групп сопровождается рядом нежелательных явлений, в особенности у пациентов,отягощенных соматически (диабет, гипертоническая болезнь и т.д.) [2].

Лечение вульгарной пузырчатки высокими дозами системных глюкокортикоидов в течение длительного периода времени (монотерапия или в сочетании с иммунодепрессантами) позволило снизить смертность от данного заболевания с 70 до 30% [21].

### Новые методы терапии пузырчатки

За последнее десятилетие были разработаны препараты моноклональных антител, направленные на уменьшение числа В-клеток. Их успешно применяют в лечении В-клеточных неходжкинских лимфом и аутоиммунных заболеваний. Наиболее изученный препарат моноклональных антител против антигена CD20 — ритуксимаб — продемонстрировал свою эффективность более чем у 1 млн пациентов с В-клеточными неходжкинскими лимфомами и у пациентов с ревматоидным артритом, невосприимчивых к ингибиторам ФНО  $\alpha$ . Учитывая потенциальное воздействие ритуксимаба на В-клетки, он был использован в научных целях в лечении многих аутоиммунных заболеваний, в т.ч. вульгарной пузырчатки [27].

Ритуксимаб — это химерные моноклональные антитела к CD20 антигену В лимфоцитов.

Ритуксимаб связывается с CD20-экспрессирующими В лимфоцитами, от пре-В клеток до ранних плазмобластов, исключая про-В клетки и плазматические клетки. Поскольку CD20 отсутствует на стволовых клетках и других предшественниках В-клеток, а также на плазматических клетках, выраженного угнетения костного мозга и нарушения продукции нормальных антител не происходит.

У человека ритуксимаб способен снижать число CD20 В лимфоцитов в периферической крови, селезенке, костном мозге, синовиальной оболочке, слюнных железах. Ритуксимаб вызывает гибель В-клеток путем активации следующих механизмов:

- стимуляции апоптоза В-клеток;
- комплементзависимой цитотоксичности;
- антителозависимой клеточной цитотоксичности [27–29].

В исследовании R.J. Feldman и соавт. лечение ритуксимабом получали 153 пациента с вульгарной пузырчаткой [27]. Пациенты в среднем наблюдались 14,2 мес. Полная или частичная клиническая ремиссия зарегистрирована у 65% пациентов, в то время как при лечении преднизолоном в сочетании с иммунодепрессантами этот показатель составил всего 30%. Более того, 1/3 пациентов, у которых была достигнута клиническая ремиссия после приема ритуксимаба, не требовалась дополнительная системная терапия для профилактики рецидивов заболевания. На основании результатов исследования R.J. Feldman и со-

авт. настоятельно рекомендуют применение ритуксимаба у больных пузырчаткой, особенно в случаях резистентных форм заболевания или при развитии серьезных побочных эффектов к стандартной терапии [27].

Согласно результатам метаанализа A.R. Ahmed и соавт. [30], 500 пациентов с резистентной к стандартной терапии вульгарной пузырчаткой получали ритуксимаб в различных дозировках (по протоколам для ревматоидного артрита или лимфомы срок наблюдения составлял 21,9 и 28,9 мес, соответственно). Подавляющее большинство пациентов также получали системные глюкокортикоиды до, во время или после лечения ритуксимабом. В течение менее чем 6 нед у 90–95% больных развилась клиническая ремиссия. Полное разрешение высыпаний было достигнуто за 3–4 мес. Небольшая часть пациентов оставалась в фазе ремиссии без дополнительной системной терапии в течение всего срока наблюдения. Большая часть пациентов получала системные глюкокортикоиды и иммунодепрессанты в небольших дозировках после терапии ритуксимабом. По результатам данного метаанализа ритуксимаб продемонстрировал себя как эффективное средство для лечения пузырчатки. Тем не менее частота рецидивов заболевания как после лечения ритуксимабом, так и после стандартной терапии, остается высокой. По мнению авторов, возможна разработка протокола лечения пузырчатки ритуксимабом, при использовании которого ремиссия будет достигать нескольких лет без необходимости приема системных глюкокортикоидов или других иммунодепрессантов. Протоколы, применяемые в настоящее время, не учитывают особенностей патофизиологии пузырчатки, поскольку нормальные В-клетки, опухолевые В-клетки и В-клетки, обнаруживаемые у больных пузырчаткой, значительно различаются по морфологии и функциям. Серьезной проблемой использования ритуксимаба является восстановление иммунорегуляторных механизмов, которые нарушаются при приеме препарата [30].

В исследовании L. Lunardon и соавт., проведенном на 31 больном, наблюдали клиническое улучшение у всех пациентов, а у 18 пациентов из 31 (58%) была достигнута полная клиническая ремиссия после лечения ритуксимабом (при отсутствии или минимальной системной терапии) [31]. Оказалось, что у пациентов, достигнувших полной ремиссии, средняя продолжительность заболевания до начала терапии ритуксимабом составила 19 мес, а у тех, кто не достиг полной ремиссии, — 86 мес. Авторы утверждают, что раннее начало лечения ритуксимабом значительно повышает эффективность терапии и прогноз заболевания [31].

N. Colliau и соавт. исследовали число антидесмоглеиновых В-клеток у пациентов, у которых установилась полная или неполная клиническая ремиссия после терапии ритуксимабом [32]. Ими показано, что у пациентов с полной ремиссией содержание транзиторных В-клеток и ИЛ 10-секретирующих регуляторных В-клеток в 4 раза превышало таковое у пациентов с неполной ремиссией. Более того, полная клиническая ремиссия была ассоциирована с модификацией первичных В-клеток и элиминацией циркулирующих антидесмоглеиновых IgG+ В-клеток. Авторы полагают, что отсроченными эффектами ритуксимаба являются нарушение созревания В-клеток, пролонгирование жизни недифференцированных В-клеток и отсроченная реактивация В-клеток памяти, что приводит к постепенному исчезновению антидесмоглеиновых В-клеток и продолжительному эффекту ритуксимаба у больных пузырчаткой. Авторы также утверждают, что ритуксимаб способен не только вызывать продолжитель-

ную клиническую ремиссию при значительном снижении дозы системных глюкокортикоидов, но, в ряде случаев, вызывать функциональное излечение заболевания [32].

В рекомендациях по диагностике и лечению пузырчатки Европейского дерматологического форума и Европейской академии дерматологии и венерологии от 2015 г. ритуксимаб указан в качестве терапии второй линии (у пациентов с резистентной формой пузырчатки или при наличии противопоказаний к приему иммунодепрессантов) в дозировке 1 г внутривенно 1 раз/в нед в течение 2 нед или 375 мг/м<sup>2</sup> 1 раз/нед в течение 4 нед [33].

Антицитокиновая терапия является перспективным направлением в лечении пузырчатки. В качестве потенциальных мишеней для терапии также могут рассматриваться цитокины, участвующие в патогенезе заболевания: ФНО  $\alpha$ , ИЛ 1, 6, 4 и др. [21].

В ряде исследований показана эффективность биологических препаратов против ФНО  $\alpha$  (инфликсимаб, адалимумаб, этанерцепт) у больных пузырчаткой [34–39].

Таргетным препаратом против ИЛ 1 является анакинра — рекомбинантный антагонист рецептора человеческого ИЛ 1, который изначально был синтезирован для лечения сепсиса. Препарат одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food & Drug Administration, FDA, США) для лечения ревматоидного артрита. В настоящее время изучают эффективность другого препарата человеческих моноклональных антител против ИЛ 1 — канакинумаба, в качестве показаний к которому выделены диабет 2-го типа, подагра, ревматоидный артрит [40–42].

Для клинического использования также одобрен препарат моноклональных антител против ИЛ 6 тоцилизумаб. Ряд исследователей подтвердили его эффективность при ревматоидном артрите [40, 43]. Тоцилизумаб одобрен FDA для лечения ревматоидного артрита в 2010 г. [44].

В связи с появлением данных о том, что T<sub>H2</sub> играют одну из ключевых ролей в патогенезе пузырчатки, биологические препараты против ИЛ 4 могли бы стать эффективным методом терапии данного дерматоза. В настоящее время тестируют препараты моноклональных антител против ИЛ 4 (пасколизумаб) и растворимых рецепторов к ИЛ 4 [45, 46].

Таким образом, цитокины, ответственные за межклеточное взаимодействие между лейкоцитами, могут стать потенциальными мишенями для разработки к ним таргетных препаратов. Тем не менее ни у одного из вышеуказанных средств нет показаний к применению при терапии вульгарной пузырчатки. Как было изложено выше, ритуксимаб одобрен FDA для лечения резистентных или рецидивирующих форм ревматоидного артрита, неходжкинских лимфом, хронического лимфоцитарного

лейкоза, но не показан для лечения пузырчатки. В то же время в клинических рекомендациях по диагностике и лечению пузырчатки Европейского дерматологического форума и Европейской академии дерматологии и венерологии от 2015 г. ритуксимаб рекомендован в качестве иммуносупрессивной адьювантной терапии второй линии у пациентов с резистентной формой пузырчатки либо при наличии противопоказаний к приему иммунодепрессантов.

Изучение эффективности и безопасности существующих биологических препаратов у больных пузырчаткой необходимо для расширения официальных показаний к их применению.

### Заключение

С учетом вышеизложенного новым перспективным подходом к эффективному лечению пузырчатки и иных аутоиммунных заболеваний в дерматологии является использование препаратов, оказывающих блокирующее действие на экспрессию цитокинов. Дальнейшее направление научных исследований безопасности и эффективности применения моноклональных антител в качестве средства таргетной терапии заключается в поиске узкоспецифической мишени среди уже известных цитокинов и новых специфических мишеней пузырчатки. С этой целью в ГНЦ дерматовенерологии и косметологии проводятся работы по созданию экспериментальной модели пузырчатки на лабораторных животных (новорожденных мышей линии Balb/c). Разработаны технологии выделения препаратов суммарных иммуноглобулинов класса G из сывороток крови больных истинной акантолитической пузырчаткой и здоровых добровольцев методом аффинной хроматографии для последующего введения лабораторным животным. Выполняются экспериментальные работы по введению лабораторным животным препаратов суммарных иммуноглобулинов класса G, содержащих антитела к десмоглеину-3, полученные от больных пузырчаткой и здоровых добровольцев. В экспериментах удалось добиться появления клинических симптомов заболевания на коже лабораторных животных (пузырей и последующих эрозий), что подтверждается патоморфологической картиной. В настоящее время ведется работа по валидации полученных результатов.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Насонов Е.Л. Перспективы применения ритуксимаба при аутоиммунных заболеваниях человека. *PMJ* 2007; 15 (26):1958–1963.
2. Кубанов А.А., Абрамова Т.В. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2014; 4: 19–27.
3. Tamgadge S., Tamgadge A., Bhatt D.M., Bhalerao S, Pereira T. et al. *Contemp. Clin. Dent*. 2011; 2: 134–137.
4. Groves R.W. *Clin. Med*. 2009; 9 (4): 371–375.
5. Chmurova N., Svecova D. *Bratislava Med. J.* 2009; 110 (8): 500–503.
6. Langan S.M., Smeeth L., Hubbard R., Fleming K.M., Smith C.J.P., West J. *BMJ*. 2008; 337: a180.
7. Mimouni D., Bar H., Gdalevich M., Katzenelson V., David M. *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol*. 2010; 24: 947–952.
8. Yan L., Wang J.-M., Zeng K. *Br. J. Dermatol*. 2012; 167 (4): 768–777.
9. Mortazavi H., Amirzargar A.A., Esmaili N., Toofan H., Ehsani A.H., Hosseini S.H. *J. Dermatol*. 2013; 40 (4): 244–248.
10. Pan M., Zhu H., Xu R. *J. Dermatol*. 2015; 42 (1): 11–17.
11. Meyer N., Misery L. *Autoimmun. Rev*. 2010; 9 (5): A379–A382
12. Thomas M., Paul C., Berard E., Fortenfant F., Mazereeuw-Hautier J., Livideanu C. et al. *Dermatology*. 2010; 220 (2): 97–102.
13. Адаскевич В.П., Козин В.М. Кожные и венерические болезни. *М.: Мед. лит*. 2006. 672 с.



14. Satyam A., Khandpur S., Sharma V.K., Sharma A. *Immunol. Invest.* 2009; 38 (6): 498–509.
15. Grando S.A. *Autoimmunity.* 2012; 45 (1): 7–35.
16. Pfitzner M., Niedermeier A., Hertl M., Eming R. *Eur. J. dermatology.* 2007; 17 (1): 4–11.
17. Hertl M., Eming R., Veldman C. *J. Clin. Invest.* 2006; 116 (5): 1159–1166.
18. Wada N., Nishifuji K., Yamada T., Kudoh J., Shimizu N., Matsumoto M. et al. *J. Invest. Dermatol.* 2011; 131 (2): 410–417.
19. Kim J.M., Rasmussen J.P., Rudensky A.Y. *Nat. Immunol.* 2007; 8 (2): 191–197.
20. Zhu H., Chen Y., Zhou Y., Wang Y., Zheng J., Pan M. *J. Clin. Immunol.* 2012; 32 (1): 114–123.
21. Giordano C.N., Sinha A.A. *Autoimmunity.* 2012; 45 (6): 427–439.
22. Arakawa M., Dainichi T., Yasumoto S., Hashimoto T. *J. Dermatol. Sci.* 2009; 53 (3): 228–231.
23. Xu R.-C., Li W.-P., Zhao X.-Q., Yuan H.-J., Zheng J., Pan M. *Eur. J. Dermatol.* 2013; 23 (6): 795–802.
24. Thorn G.W., Forsham P.H., Frawley T.F., Hill, S.R., Roche, M., Staehelin D.W. et al. *N. Engl. J. Med.* 1950; 242 (22): 865–872.
25. Mutasim D.F. *Ther. Clin. Risk Manag.* 2007; 3 (1): 29–40.
26. Ruocco E., Wolf R., Ruocco V., Brunetti G., Romano F., Lo Schiavo A. *Clin. Dermatol.* 2013; 31 (4): 382–390.
27. Feldman R.J., Ahmed A.R. *Clin. Immunol.* 2011; 7 (4): 529–541.
28. Lunardon L., Payne A.S. *G. Ital. Dermatol. Venereol.* 2012; 147 (3): 269–276.
29. Motta G., Cea M., Moran E., Carbone F., Augusti V., Patrone F. *Clin Dev Immunol.* 2010; 428253.
30. Ahmed A.R., Shetty S. *Autoimmun. Rev.* 2015; 14 (4): 323–331.
31. Lunardon L., Tsai K.J., Propert K.J., Fett N., Stanley J.R., Werth V.P., Tsai D.E. et al. *Arch. Dermatol.* 2012; 148 (9): 1031–1036.
32. Colliou N., Picard D., Caillot F., Calbo S., Le Corre S., Lim A. et al. *Sci. Transl. Med.* 2013; 5 (175): 175ra30.
33. Hertl M., Jedlickova H., Karpati S., Marinovic B., Uzun S., Yayli S.J. et al. *Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2015; 29 (3): 405–414.
34. Vojáčková N., Fialová J., Vaňousová D., Hercogová J. *Dermatol. Ther.* 2012; 25 (1): 95–97.
35. Fiorentino D.F., Garcia M.S., Rehmus W., Kimball, A.B. *Arch. Dermatol.* 2011; 147 (1): 117–118.
36. Howell S.M., Bessinger G.T., Altman C.E., Belnap C.M. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2005; 53 (3): 541–543.
37. Jacobi A., Shuler G., Hertl M. *Br. J. Dermatol.* 2005; 153 (2): 448–449.
38. Lin M.-H., Hsu C.-K., Lee J.Y.-Y. *Arch. Dermatol.* 2005; 141 (6): 680–682.
39. Pardo J., Mercader P., Mahiques L., Sanchez-Carazo J.L., Oliver V., *Fortea J.M.* 2005; 153 (1): 222–223.
40. Ludwig R.J., Schmidt E. *G. Ital. Dermatol. Venereol.* 2009; 144 (4): 339–349.
41. Church L.D., McDermott M.F. *Curr. Opin. Mol. Ther.* 2009; 11 (1): 81–89.
42. URL: <http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/HowDrugsareDevelopedandApproved/ApprovalApplications/TherapeuticBiologicApplications/ucm080650.htm> (available: 08.04.2015).
43. Choy E.H.S., Isenberg D.A., Garrood T., Farrow S., Ioannou Y., Bird H. et al. *Arthritis Rheum.* 2002; 46 (12): 3143–3150.
44. Actemra (tocilizumab) FDA Approval History - Drugs.com [Online]. URL: <http://www.drugs.com/history/actemra.html> (accessed: 06.03.2015).
45. Borish L.C., Nelson H.S., Lanz M.J., Claussen L., Whitmore J.B., Agosti J.M. et al. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 160 (6): 1816–1823.
46. Hart T.K., Blackburn M.N., Brigham-Burke M., Dede K., Al-Mahdi N., Zia-Amirhosseini P. et al. *Clin. Exp. Immunol.* 2002; 130 (1): 93–100.
47. URL: <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm109106.htm> (available: 08.04.2015).

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Кубанова Анна Алексеевна**, доктор медицинских наук, академик РАН, директор ГНЦДК

Адрес: 107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6, тел.: +7 (499) 785-20-15, e-mail: [info@cnikvi.ru](mailto:info@cnikvi.ru)

**Кубанов Алексей Алексеевич**, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора ГНЦДК

Адрес: 107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6, тел.: +7 (499) 785-20-83, e-mail: [alex@cnikvi.ru](mailto:alex@cnikvi.ru)

**Карамова Арфеня Эдуардовна**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела дерматологии ГНЦДК

Адрес: 107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6, тел.: +7 (499) 785-20-96, e-mail: [karamova@cnikvi.ru](mailto:karamova@cnikvi.ru)

В.И. Мазуров, Е.А. Трофимов

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,  
Санкт-Петербург, Российская Федерация

## Инновационные методы лечения системных аутоиммунных заболеваний

Рассматриваются проблемы инновационного лечения системных аутоиммунных заболеваний на примере ревматоидного артрита и системной красной волчанки. Проведен анализ лекарственных средств и принципов лечения ревматоидного артрита и системной красной волчанки. Применение генно-инженерных биологических препаратов целесообразно при тяжелом и быстро прогрессирующем течении ревматоидного артрита и способствует достижению ремиссии в 25–30% случаев. Использование генно-инженерных биологических препаратов (в виде анти-В-клеточной терапии) при тяжелых формах системной красной волчанки позволяет снизить уровень иммуновоспалительной активности, а также приводит к регрессу вторичного васкулита легочной ткани и почечной паренхимы. Особое внимание уделено вопросам безопасности и эффективности генно-инженерных биологических препаратов и синтетических базисных противовоспалительных средств. **Ключевые слова:** системные аутоиммунные заболевания, ревматоидный артрит, системная красная волчанка, генно-инженерные биологические препараты.

(Для цитирования: Мазуров В.И., Трофимов Е.А. Инновационные методы лечения системных аутоиммунных заболеваний. Вестник РАМН. 2015; 70 (2): 165–168. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1309)

Повышение эффективности комплексной терапии системных аутоиммунных заболеваний (САЗ), в частности ревматоидного артрита (РА) и системной красной волчанки (СКВ) остается одной из актуальных проблем клинической ревматологии.

Известно, что для лечения САЗ используется широкий спектр препаратов, обладающих противовоспалительной и иммуносупрессивной активностью. Однако, несмотря на рациональное применение этих (базисных) препаратов, позволивших существенно улучшить прогноз и отсрочить развитие инвалидности, более чем у половины пациентов с РА и СКВ не удается надежно контролировать прогрессирование заболевания и развитие жизнеугрожающих осложнений [1].

Начало XXI в. ознаменовалось внедрением в клиническую практику генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП), которые обладают способностью избирательно воздействовать на основные звенья патогенеза САЗ и, следовательно, модифицировать течение данной группы заболеваний. Использование ГИБП в комбинации с базисными препаратами (метотрексат, лефлуномид

и др.) позволило улучшить не только ближайший (уменьшение степени выраженности болевого синдрома, снижение темпов остеодеструктивных процессов, уменьшение уровня иммунологической активности), но и отдаленный (снижение инвалидизации и преждевременной летальности, улучшение функционального состояния больных и качества жизни) прогноз у больных РА [2].

В 1975 г. Кёлер и Мильштейн предложили метод получения гибридом для извлечения моноклональных антител (МАТ) [3].

Известно, что после иммунизации животных (как правило, это инбредные лабораторные мыши) в их селезенке появляются В лимфоциты, специфически отреагировавшие на все антигенные детерминанты, т.е. на каждую антигенную детерминанту — свой В лимфоцит.

Путем присоединения F(ab)<sub>2</sub>-фрагмента мышиного моноклонального антитела к Fc-фрагменту человеческого иммуноглобулина получают химерное моноклональное антитело, реагирующее со специфическим антигеном, в т.ч. с определенным цитокином. Гуманизированные моноклональные антитела на 90% гомологичны челове-

V.I. Mazurov, E.A. Trofimov

I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

## Innovative Methods of Some Systemic Autoimmune Diseases Treatment

In the present paper we consider the problem of innovative treatment of systemic autoimmune diseases for example, rheumatoid arthritis (RA) and systemic lupus erythematosus (SLE). The use of biological therapy is suitable for severe rheumatoid arthritis and promotes remission in 25–30% of cases. Application biological therapy (as anti-B cell therapy) in cases of systemic lupus erythematosus severe forms can reduce the immuno activity level, and also leads to the regression of secondary vasculitis in lung tissue and renal parenchyma. The analysis of drugs and principles of treatment of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus was done. Particular attention is paid to the safety and efficacy of biological agents and synthetic base anti-inflammatory drugs.

**Key words:** system autoimmune disease, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, biological agents.

(For citation: Mazurov V.I., Trofimov E.A. Innovative Methods of Some Systemic Autoimmune Diseases Treatment. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 70 (2): 165–168. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1309)

скому иммуноглобулину. В них остается лишь небольшая часть F(ab)<sub>2</sub>-фрагментов, отвечающих за специфическое связывание (гипервариабельные участки). Они обладают низкой иммуногенностью и более высоким профилем безопасности.

ГИБП нашли широкое применение в фармакотерапии САЗ. Число нозологий, при которых их применяют, постоянно пополняется. В настоящий момент определены показания для применения данного вида терапии у пациентов с РА, СКВ, анкилозирующим спондилитом, АНЦА-ассоциированными васкулитами (антинейтрофильными цитоплазматическими антителами), болезнью Шегрена и др. [4].

Перечень ГИБП расширяется, однако наиболее изученными и чаще всего используемыми в клинической практике остаются ингибиторы фактора некроза опухоли (ФНО)  $\alpha$  — основного цитокина, определяющего развитие иммуновоспалительного процесса и костных деструкций при РА, а также анти-В-клеточные МАТ против антигена CD20, находящегося на поверхности зрелых В лимфоцитов (ритуксимаб), или к растворимому ВLyS, стимулирующему дифференцировку В лимфоцитов в плазматические клетки (белимуаб) [4].

В настоящее время выделяют 3 класса ингибиторов ФНО  $\alpha$ , которые применяют у пациентов с САЗ:

- этанерцепт — рекомбинантная гибридная молекула рецептор/ Fc-иммуноглобулин;
- инфликсимаб/адалимуаб/голимуаб — полные моноклональные антитела;
- цертолизумаб пгол — пегилированный Fab-фрагмент;

К препаратам, блокирующим стимуляцию T<sub>H1</sub> путем связывания молекул CD80/86, находящихся на поверхности антигенпрезентирующих клеток, которые взаимодействуют с рецепторами CD28 Т лимфоцитов, относится абатацепт.

В последние годы быстро развивается производство биосимиляров, имеющих структурное сходство с оригинальными ГИБП, хотя при этом их не следует рассматривать как копии оригинальных ГИБП. Их эффективность и безопасность должны изучаться в ходе отдельных многоцентровых слепых контролируемых клинических исследований [5].

Новым препаратом в таргетной терапии РА стал тофацитиниб, отличающийся по механизму подавления провоспалительных цитокинов от ГИБП [6]. Это единственный препарат для перорального приема, блокирующий сигнальные пути цитокинов через систему янус-киназ (ЯК, JAK) — белков-переносчиков сигнала и активаторов транскрипции мДНК клеток-мишеней [7].

Рассматривая инновационные методы лечения РА, следует отметить, что на его долю приходится 10% общего числа ревматических болезней, а ежегодная частота возникновения новых случаев заболевания составляет около 0,02%. РА — одно из наиболее распространенных хронических воспалительных заболеваний суставов. Согласно данным экспертов Всемирной организации здравоохранения, им страдают от 0,6 до 1,3% популяции. Основными симптомами РА являются постоянная боль воспалительного характера в суставах и прогрессирующее нарушение их функции, что приводит к снижению качества жизни пациентов и ранней инвалидизации [1]. Почти 50% пациентов с РА становятся инвалидами в течение 5 лет от начала заболевания. При этом пациенты с РА подвержены повышенному риску развития сердечно-сосудистой патологии, заболеваний органов дыхания, инфекций, злокачественных опухолей, депрессии и/или тревоги.

Современные принципы терапии РА в основном сформировались в 90-х гг. прошлого столетия. Они предусматривают максимально раннее назначение базисных противовоспалительных препаратов, широкое использование их комбинаций, своевременную смену препаратов при отсутствии эффекта от лечения. К базисным противовоспалительным препаратам относят группу различных по химической структуре лекарственных средств, объединенных способностью «модифицировать» течение РА, приводя к стойкому снижению активности заболевания и замедлению темпов рентгенологического прогрессирования, достижению клинико-лабораторной ремиссии. Кроме того, широкое применение приобрели методы нефармакологической терапии, а также возможности современной ревмоортопедии [8].

При отсутствии эффекта от традиционной терапии и сохранении высокой активности иммуновоспалительного процесса больным РА назначают ГИБП, из которых препаратами первой линии являются ингибиторы ФНО  $\alpha$ . Эффективность ингибиторов ФНО разных поколений (инфликсимаб, адалимумаб, этанерцепт и голимуаб) доказана в ряде клинических исследований, в т.ч. и собственного регистра больных РА [4, 5].

Несмотря на высокую клиническую эффективность ингибиторов ФНО  $\alpha$  у пациентов с тяжелым РА, резистентным к стандартным базисным противовоспалительным препаратам, опыт длительного применения этих средств в реальной клинической практике свидетельствует о том, что до 30% пациентов рефрактерны к лечению ими.

Следует подчеркнуть, что моноклональные антитела (в большей степени ингибиторы ФНО  $\alpha$ ) способны вызывать реактивацию латентной туберкулезной инфекции, нередко протекающей атипично (милиарный туберкулез, внелегочные проявления). Это диктует необходимость тщательного обследования (реакция Манту, квантифероновый тест, Диаскинтест, компьютерная томография органов грудной клетки) пациентов с РА как перед началом, так и в ходе проведения терапии ГИБП.

В настоящее время очевидно, что терапия ингибиторами ФНО  $\alpha$  в комбинации с метотрексатом превосходит монотерапию ингибиторами ФНО как по клинической эффективности, так и по влиянию на прогрессирование остеодеструкции.

При выполнении динамического рентгенологического контроля нами установлен факт, что у 42% пациентов, получающих комбинированную терапию ингибиторами ФНО и метотрексатом (МТ), наблюдалось снижение темпов прогрессирования эрозивного процесса. При этом в отдельных случаях отмечалось уменьшение размеров и числа эрозий [9].

Среди перспективных направлений научных исследований, связанных с разработкой таргетной терапии САЗ, особое место занимают МАТ к интерлейкину (ИЛ) 6, который обладает широким спектром провоспалительных эффектов. К препаратам этой группы относится тоцилизумаб (ТЦЗ) — рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к рецептору ИЛ 6 (IL6R), который селективно связывается и подавляет как растворимые, так и мембранные рецепторы ИЛ 6 (sIL-6R и mIL-6R).

Важным является то положение, что ТЦЗ — это первый генно-инженерный биологический препарат, который показал более высокую эффективность в сравнении с монотерапией МТ.

Кроме того, профиль безопасности ТЦЗ сравним с таковым МТ, демонстрируя благоприятное соотношение



риска и пользы у существенной доли пациентов с умеренной и тяжелой формой РА.

Несмотря на столь значимый успех применения ГИБП в терапии РА, порядка 36% пациентов не отвечают на лечение или не достигают ожидаемого эффекта. У некоторых больных, положительно ответивших на терапию, с течением времени наблюдается снижение ее эффективности или появление побочных эффектов. Определенный вклад в «ускользание эффекта» вносит иммуногенность применяемых препаратов.

Известно, что моноклональные антитела, являясь белковыми молекулами, обладают антигенными свойствами. Как и все иммуноглобулины, искусственно синтезированные моноклональные антитела содержат Fab-фрагменты, включающие антигенсвязывающие домены, и Fc-фрагмент, содержащий участки связывания комплемента и Fc-рецепторов фагоцитирующих клеток. Введенные моноклональные антитела распознаются иммунной системой человека как чужеродные антигены, к которым происходит образование антител. Иммуногенными могут быть Fab- и Fc-фрагменты. Кроме того, возможно образование новых антигенных детерминант в искусственных генно-инженерных молекулах. Иммуногенность ГИБП напрямую зависит от процентного содержания в их составе молекулы мышинового белка. Химерные моноклональные антитела за счет содержания в своей структуре мышинового компонента могут вызывать образование человеческих антихимерных антител (human anti-chimeric antibodies). Полностью человеческие (точнее, идентичные человеческим, не содержащие чужеродного белка) моноклональные антитела обладают низкой иммуногенностью, что обуславливает их более длительную эффективность. Вместе с тем и к человеческим моноклональным антителам могут вырабатываться антитела (human anti-human antibodies). Появление нейтрализующих антител может приводить к снижению концентрации препарата в крови и формированию вторичной неэффективности терапии, а также к увеличению частоты инфузионных (постинъекционных) реакций.

Вторым заболеванием по медицинской и социальной значимости среди системной аутоиммунной патологии является СКВ, характеризующаяся гиперпродукцией большого количества органонеспецифических аутоантител к различным структурам ядра клеток и отложением иммунных комплексов в сосудистой стенке, что ведет к поражению многих органов и систем с последующим развитием полиорганной недостаточности.

СКВ характеризуется неуклонно прогрессирующим течением, высокой инвалидизацией, тяжелыми социальными последствиями и требует проведения интенсивной терапии, подходы к которой последнее время достаточно часто модифицируются [10].

Терапия СКВ прежде всего направлена на достижение ремиссии заболевания, а затем — на ее поддержание и профилактику обострений. В лечении СКВ основными лекарственными средствами остаются глюкокортикоиды (ГК) — преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон. Схемы лечения включают как монотерапию высокими (0,6–2 мг/кг в сут) и средними (0,2–0,5 мг/кг в сут) дозами ГК, так и пульс-терапию ГК и циклофосфамидом [11, 12]. Дозы ГК зависят от цели лечения (индукция ремиссии или поддерживающая терапия). При отсутствии ожидаемого эффекта от использования ГК назначают базисные иммуносупрессивные препараты (азатиоприн, циклофосфамид, циклоспорин А, микофенолата мофетил) на фоне применения ГК [13, 14].

Достижениями современной фармакотерапии СКВ стали анти-В-клеточные ГИБП — ингибитор фактора активации В-клеток (BlyS) белимумаб и ритуксимаб — химерное моноклональное антитело к CD20-антигену, который экспрессируется на поверхности большинства нормальных и злокачественных В-клеток.

Следует отметить, что МАТ к ФНО  $\alpha$  не назначают при СКВ, поскольку они сами могут вызвать развитие СКВ-подобного синдрома или лекарственную волчанку, что подтверждено собственными данными [5].

Первое сообщение о применении ритуксимаба при СКВ относится к 2001 г., когда F. Petschner и соавт. использовали его для лечения «катастрофической» СКВ с цитопенией, полисерозитом и лимфаденопатией по жизненным показаниям [10]. В 2002 г. M.J. Leandro и соавт. опубликовали результаты применения ритуксимаба у 6 больных СКВ, рефрактерных к стандартной терапии, включая азатиоприн, микофенолата мофетил, циклоспорин и внутривенное введение циклофосфамида [6].

Опыт применения ритуксимаба у 1500 пациентов с СКВ свидетельствует о том, что у 70% из них был достигнут положительный эффект, а у 30% — ремиссия. На фоне его применения наблюдали торможение быстропрогрессирующего волчаночного нефрита, а также купирование гематологического криза, цереброваскулита [15] и серозитов [16].

В СЗГМУ им. И.И. Мечникова терапия СКВ с применением МАТ проводится с 2008 г. За это время были компенсированы пациенты с тяжелыми (критическими) проявлениями нейро-СКВ в виде вторичного васкулита с преимущественным поражением терминальных сосудов таламуса, где выявлены признаки вазогенного отека, нарушение проницаемости сосудистой стенки и вторичного сдавления капилляров внеклеточным отеком. На фоне комплексной терапии (ГК в сочетании с МАТ) отмечено значительное уменьшение участка поражения в области таламуса по сравнению с предыдущими исследованиями. Признаков вазогенного отека и объемного воздействия на окружающие структуры головного мозга не выявлено. Отмечался регресс неврологического дефицита.

Получены положительные данные о применении МАТ у пациентов с острым люпус-пневмонитом, интерстициальными пневмониями, легочными (альвеолярными) геморрагиями, коронаритом на фоне вторичного антифосфолипидного синдрома, вторичным геморрагическим васкулитом, люпус-нефритом.

Вместе с тем в ряду рандомизированных плацебо-контролируемых исследованиях, посвященных оценке эффективности ритуксимаба при СКВ по сравнению с традиционными иммуносупрессантами (LUNAR-эффективность ритуксимаба при волчаночном нефрите и EXPLORER-эффективность — при умеренных и тяжелых внепочечных проявлениях СКВ), не подтвердили преимущества ритуксимаба перед этими препаратами [11].

Что касается белимумаба, то в ряде клинических исследований III фазы (BLISS-52 и BLISS-76) показано снижение общей частоты обострений и тяжелых обострений СКВ, а также уменьшение степени выраженности мышечно-скелетных и кожно-слизистых проявлений по сравнению с плацебо [12].

Наиболее полные представления о развитии побочных явлений на фоне лечения ГИБП представлены в Консенсусе по биологической терапии Европейской антиревматической лиги (EULAR). К наиболее частым нежелательным явлениям относятся инфекции. При этом повышается риск развития туберкулеза. По поводу риска развития злокачественных новообразований имеющиеся

сведения противоречивы, что в определенной степени объясняется повышенным риском формирования новообразований (особенно лимфом) при РА [17].

Собственные данные позволяют утверждать, что риск развития инфекций, в т.ч. оппортунистических, более высок у пациентов, получающих МАТ к ФНО α.

Таким образом, инновационные методы лечения РА и СКВ с применением ГИБП позволяют существенно повысить эффективность комплексной терапии этих системных аутоиммунных заболеваний. Вопросы длитель-

ности лечения больных РА и СКВ МАТ требуют проведения дальнейших исследований.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки/конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Мазуров В.И. Современные методы диагностики и лечения ревматических заболеваний. *Медицинская иммунология*. 2001; 3 (2): 187–193.
2. Мазуров В.И., Лиля А.М., Зоткин Е.Г. Клиническая ревматология. М.: *ФОЛИАНТ*. 2005. 515 с.
3. Köhler G., Milstein C. (1975). Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256: 495–497.
4. Насонов Е.Л. Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматоидного артрита. Под ред. Е.Л. Насонова. М.: *ИМА-ПРЕСС*. 2013. 549 с.
5. Danese S., Gomollon F. American college of Rheumatology position statement, 2012. *J. Crohn's Colitis*. 2013; 7: 586–589.
6. Mavers M., Ruderman E.M., Perlman H. Intracellular signal pathways: potential for therapies. *Curr. Rheum. Rep.* 2009; 11: 378–385.
7. Rommel C., Camps M., Ji H. PI3Kδ and PI3Kγ: partners in crime in inflammation in rheumatoid arthritis and beyond? *Nat. Rev. Immunol.* 2007; 7: 191–201.
8. Harris E.D., Firestein G.S. In: Kelley's Textbook of Rheumatology. 8th edn. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2008. P. 1087–1118.
9. Трофимов Е. А., Мазуров В. И., Трофимова Т. Н., Трофимова А. В., Уваров С. Ю.. Магнитно-резонансная томография кистей в оценке эффективности терапии ревматоидного артрита. *Лучевая диагностика и терапия*. 2010; 31: 11–20.
10. American Thoracic Society; European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. This joint statement of the American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS) was adopted by the ATS board of directors, June 2001 and by the ERS Executive Committee, June 2001. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 15: 277–304.
11. Sibbitt W.L. Jr., Brandt J.R., Johnson C.R., Maldonado M.E., Patel S.R., Ford C.C., Bankhurst A.D., Brooks W.M. The incidence and prevalence of neuropsychiatric syndromes in pediatric onset systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* 2002; 29: 1536–1542.
12. Ainiala H., Loukkola J., Peltola J., Goldman D, Magder LS, Petri M. The prevalence of neuropsychiatric syndromes in systemic lupus erythematosus. *Neurology*. 2001; 57: 496–500.
13. Hanly J.G. Neuropsychiatric lupus. *Curr. Rheumatol. Rep.* 2001; 3: 205–212.
14. Sakic B., Kolb B., Whishaw I. Q., Gorny G., Szechtman H. Immunosuppression prevents neuronal atrophy in lupus-prone mice: evidence for brain damage induced by autoimmune disease? *J. Neuroimmunol.* 2000; 111 (1–2): 93–101.
15. Harel L., Sandborg C., Lee T., von Scheven E. Neuropsychiatric manifestations in pediatric systemic lupus erythematosus and association with antiphospholipid antibodies. *J. Rheumatol.* 2006; 33: 1873–1877.
16. Kim J.S., Lee K.S., Koh E.M., Kim S.Y., Chung M.P., Han J. Thoracic involvement of systemic lupus erythematosus: clinical, pathologic, and radiologic findings. *J. Comput. Assist. Tomogr.* 2000; 24 (1): 9–18.
17. Hanly J.G., Urowitz M.B., Sanchez-Guerrero J., Bae C., Gordon C., Isenberg D.J. Neuropsychiatric events at the time of diagnosis of systemic lupus erythematosus: An international inception cohort study. *Arthritis Rheum.* 2007; 56: 265–273.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Мазуров Вадим Иванович**, доктор медицинских наук, академик РАН, заведующий кафедрой терапии и ревматологии им. Э.Э. Эйхвальда СЗГМУ им. И.И. Мечникова

**Адрес:** 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41, **тел.:** +7 (921) 951-71-88, **e-mail:** maz.nwgm@yandex.ru

**Трофимов Евгений Александрович**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии и ревматологии им. Э.Э. Эйхвальда СЗГМУ им. И.И. Мечникова

**Адрес:** 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41, **тел.:** +7 (921) 978-86-26, **e-mail:** evgeniy.trofimov@szgmu.ru

Е.Л. Насонов, Е.Н. Александрова, А.А. Новиков

НИИР им. В.А. Насоновой, Москва, Российская Федерация

## Аутоиммунные ревматические заболевания — проблемы иммунопатологии и персонифицированной терапии

По современным представлениям, аутоиммунитет — это комплексный патологический процесс, в основе которого лежит нарушение толерантности и, как следствие, патологический иммунный ответ в отношении компонентов собственных тканей (аутоантигенов), приводящий к развитию широкого спектра аутоиммунных заболеваний человека. В последние годы были расшифрованы многообразные нарушения иммунитета, приобретенные и/или врожденные (связаны с полиморфизмом генов, регулирующих иммунный ответ), которые реализуются на клеточном и гуморальном уровне: тимус, кишечник, иммунные клетки периферической крови, включая Т и В лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки, регуляторные Т клетки, компоненты системы комплемента, цитокины и другие. Установлена связь между развитием аутоиммунных ревматических (АРЗ) и аутовоспалительных заболеваний и синдромов, разработана классификация иммуновоспалительных заболеваний человека. В статье рассмотрены результаты собственных исследований, касающихся лечения АРЗ с использованием инновационных генно-инженерных биологических препаратов, изучения патогенетических механизмов и диагностики АРЗ на основе иммунологических и молекулярно-биологических методов исследования широкого спектра молекулярных и клеточных биомаркеров (аутоантитела, острофазовые белки воспаления, цитокины, хемокины, маркеры активации сосудистого эндотелия, компоненты системы комплемента, субпопуляции лимфоцитов, продукты метаболизма костной и хрящевой ткани, генетические, эпигенетические, транскриптомные маркеры). Также освещены подходы к персонифицированной терапии АРЗ.

**Ключевые слова:** аутоиммунные ревматические болезни, биомаркеры, аутоантитела, цитокины, генно-инженерные биологические препараты.

(Для цитирования: Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Новиков А.А. Аутоиммунные ревматические заболевания — проблемы иммунопатологии и персонифицированной терапии. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 169–182. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1310)

169

Более 100 лет назад выдающийся немецкий ученый Пауль Эрлих сформулировал гипотезу, согласно которой гуморальный иммунный ответ против собственных клеток (*horror autotoxicus* — страх самоотравления), который в настоящее время получил название «аутоиммунитет», может быть несовместим с жизнью, приводя к

необратимому поражению жизненно важных органов. По современным представлениям, аутоиммунитет — это комплексный патологический процесс, в основе которого лежит нарушение толерантности и, как следствие, патологический иммунный ответ в отношении компонентов собственных тканей (аутоантигенов). В последние годы

E.L. Nasonov, E.N. Aleksandrova, A.A. Novikov

V.A. Nasonova Research Institute for Rheumatology, Moscow, Russian Federation

## Autoimmune Rheumatic Diseases — Problems of Immunopathology and Personalized Treatment

By current standards autoimmunity is a complex pathological process based on a violation of tolerance and, consequently, the pathological immune response against its own tissues components (autoantigens) leading to the development of a wide range of autoimmune diseases in humans. In recent years, multiple immune disorders both acquired and / or congenital (associated with polymorphisms of genes that regulate immune response) have been transcribed. These disorders occur at the cellular and humoral levels: thymus, intestines, peripheral blood immune cells, including T and B lymphocytes, macrophages, dendritic cells, Treg-cells (Treg), components of complement system, cytokines and others. The interaction between the development of autoimmune rheumatic (ARD) and autoinflammatory diseases and syndromes is detected; a classification of immune-inflammatory diseases is designed. The article describes the results of our studies on the treatment of ARD using innovative genetically engineered biological agents and on the research of pathogenetic mechanisms and diagnostics of ARD based on immunological and molecular biological diagnostic techniques of a wide range of molecular and cellular biomarkers (autoantibodies, inflammatory acute phase proteins, cytokines, chemokines, markers of activation of the vascular endothelium, the components of the complement system, lymphocyte subpopulations, products of metabolism of bone and cartilage tissue, genetic, epigenetic, transcriptomic markers). The approaches to personalized treatment of ARD are presented.

**Key words:** autoimmune rheumatic diseases, biomarkers, autoantibodies, cytokines, genetically engineered biological agents.

(For citation: Nasonov E.L., Alexandrova E.N., Novikov A.A. Autoimmune Rheumatic Diseases — Problems of Immunopathology and Personalized Treatment. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 169–182. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1310)



были расшифрованы многообразные нарушения иммунитета, приобретенные и/или врожденные (связаны с полиморфизмом генов, регулирующих иммунный ответ), которые реализуются на клеточном и гуморальном уровне: тимус, кишечник, иммунные клетки периферической крови, включая Т и В лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки, регуляторные Т клетки ( $T_{reg}$ ), компоненты системы комплемента, цитокины и др. [1–3]. В целом, аутоиммунные заболевания включают более 100 нозологических форм и весьма распространены в популяции: ими страдает около 8% населения земного шара. Заболевания условно подразделяют на органоспецифические и органонеспецифические (системные), наиболее яркими примерами которых являются иммуновоспалительные ревматические заболевания. В процессе изучения аутоиммунных заболеваний стало очевидным, что патогенез многих из них не укладывается в рамки классических представлений о механизмах развития этой патологии, которую в первую очередь связывают с активацией приобретенного иммунитета и гиперпродукцией патогенных аутоантител. Это позволило сформировать концепцию аутовоспаления, которая лежит в основе как ряда редких наследственных синдромов, так и весьма распространенных воспалительных болезней человека. По нашему мнению, основоположником этой концепции является русский ученый Илья Мечников, который впервые открыл реакции клеточного иммунитета, продемонстрировав роль макрофагов в развитии воспаления в отсутствие сывороточных факторов (аутоантител), — фагоцитарную теорию иммунитета. Следует напомнить, что в 1908 г. И. Мечников и П. Эрлих были удостоены Нобелевской премии за исследования в области иммунологии. В настоящее время установлено, что развитие аутовоспалительных заболеваний связано с активацией не приобретенного (как при классических аутоиммунных заболеваниях), а врожденного иммунитета. Ключевую роль в этом процессе играют Toll- и NOD-подобные рецепторы, распознающие определенные последовательности (паттерны) микроорганизмов, компонентов ядра, высвобождающихся из подвергнутых апоптозу (или НЕТозу) клеток, кристаллы мочевой кислоты, холестерина и др. Установлено, что представитель семейства NOD-подобных молекул NLRP3 (Nucleotide-binding oligomerization domain, leucine-rich repeat and pyrin domain containing 3) является компонентом цитоплазматического комплекса (инфламасома), который регулирует активацию каспазы 1 — фермента, конвертирующего неактивные провоспалительные интерлейкины (ИЛ), такие как про-ИЛ 1, про-ИЛ 18 и про-ИЛ 33, в активные формы. Наряду с открытием редких моногенных аутовоспалительных заболеваний, связанных с мутациями гена, кодирующего NLRP3, накапливаются данные о роли аутовоспалительного процесса в развитии ряда классических аутоиммунных заболеваний человека. Полагают, что именно гиперпродукция ИЛ 1, связанная с активацией (или мутацией гена) NLRP3 инфламасомы, является ведущим механизмом, объединяющим аутоиммунные и аутовоспалительные заболевания [4]. Формирование концепции о взаимосвязи между аутоиммунитетом и аутовоспалением — одно из крупнейших достижений биологии и медицины начала XXI в., которое может иметь фундаментальное значение для формирования научно обоснованных и эффективных подходов к профилактике, ранней диагностике и лечению широкого спектра распространенных потенциально смертельных болезней. Она положена в основу современной классификации иммуновоспалительных заболеваний человека [5].

Ревматология в XXI в. отнесена к числу наиболее бурно развивающихся медицинских специальностей, эффективно адаптирующих достижения и вносящих вклад в прогресс мировой фундаментальной и клинической медицины. Системные аутоиммунные ревматические заболевания (АРЗ) — гетерогенная группа иммуновоспалительных болезней человека, включающая ревматоидный артрит (РА), системную красную волчанку (СКВ), системную склеродермию (ССД), синдром Шегрена (СШ), идиопатические воспалительные миопатии (полимиозит, ПМ; дерматомиозит ДМ), антифосфолипидный синдром (АФС) и системные васкулиты, ассоциированные с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА-СВ) [6, 7]. Актуальность проблемы АРЗ для современной медицины определяется их высокой распространенностью в популяции, трудностью ранней диагностики, быстрой инвалидизацией больных и неблагоприятным жизненным прогнозом. Теоретическим основанием для объединения этих заболеваний в один класс является не только сходство клинических признаков, отражающее системное воспаление внутренних органов, но и наличие общих иммуногенетических факторов предрасположенности и патогенетических механизмов, связанных с нарушениями в системе иммунитета. Такие АРЗ, как РА и СКВ, — не только наиболее тяжелые хронические заболевания человека, но и модели для изучения фундаментальных механизмов патогенеза и подходов к фармакотерапии других распространенных форм неинфекционных заболеваний, в т.ч. атеросклеротического поражения сосудов, злокачественных новообразований и др. Изучение проблем иммунопатологии АРЗ традиционно находится в центре внимания НИИР им. В.А. Насоновой (Москва) и в последние годы проводится в рамках двух основных направлений научных исследований — «Инновационные технологии в диагностике и лечении ревматических заболеваний взрослых и детей» (№ 0514-2014-0002) и «Разработка концепции персонализированной медицины на основе инновационных технологий диагностики, лечения и профилактики аутоиммунных ревматических заболеваний» (№ 0514-2014-0031), — входящих в программу фундаментальных исследований государственных академий наук (2013–2020 гг.).

По современным представлениям, в основе патогенеза АРЗ лежит сложное сочетание генетически детерминированных и приобретенных дефектов («дисбаланс») (иммуно)регуляторных механизмов, ограничивающих патологическую активацию иммунной системы в ответ на потенциально патогенные факторы внешней среды (инфекции, нарушение микробиоты кишечника, курение, пародонтит, ожирение, гиповитаминоз D и др.). Особое внимание привлечено к основным провоспалительным цитокинам — фактору некроза опухоли (ФНО)  $\alpha$ , ИЛ 1, 6, 12, 17, 23 и др., относительное преобладание синтеза которых над так называемыми противовоспалительными цитокинами [ИЛ 4, 10, трансформирующий фактор роста (ТФР)  $\beta$  и др.] ассоциируется с развитием разнообразных локальных (поражение суставов) и системных (поражение почек, сердца, сосудов и др.) клинических проявлений, характерных для этих заболеваний [2]. Фундаментальное значение в нарушении иммунной толерантности к собственным белкам при АРЗ играют дефекты  $T_{reg}$  [8]. Это во многом определило внимание к этим цитокинам как к перспективным терапевтическим мишеням для лечения АРЗ. В последние годы специально разработано более 10 инновационных генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) (моноклональные антитела и рекомбинантные белки), ингибирующих активность

перечисленных выше цитокинов и патологическую активацию Т и В клеток, их биоэквивалентные формы, которые с успехом применяются в клинической практике для лечения АРЗ во всем мире, в т.ч. и в России [9–11]. К ГИБП относят класс препаратов, получивших название ингибиторы ФНО α (этанерцепт, ЭТЦ; инфликсимаб, ИНФ; адалимумаб, АДА; голимумаб, ГЛМ; цертолизумаб, ЦЗП); ингибитор рецепторов ИЛ 6 тоцилизумаб (ТЦЗ); анти-В-клеточные препараты ритуксимаб (РТМ) и белимумаб; блокатор активации Т лимфоцитов абатацепт (АБЦ) и др. (табл. 1). Наряду с ГИБП разрабатывают группы химически синтезированных пероральных противовоспалительных лекарственных препаратов нового поколения (так называемые малые молекулы — small molecules), модулирующие внутриклеточную сигнализацию в иммунокомпетентных клетках (в первую очередь, ингибиторы JAK- и SYK-киназы).

Учитывая неблагоприятный прогноз у пациентов, которым показано лечение ГИБП, и их высокую стоимость, для реального снижения инвалидности и смертности, с одной стороны, и достижения максимальной эффективности распределения материальных ресурсов — с другой, крайне актуальна разработка стратегии применения этих препаратов на основе анализа социальных, клинических и экономических факторов. Для оптимизации применения ГИБП в большинстве регионов Российской Федерации эффективно функционируют «Центры терапии генно-инженерными биологическими препаратами», которые участвуют в Регистре АРБИТР («Регистр Биологи-

ческой ТеРапии). Для стандартизации подходов к оценке эффективности и безопасности терапии ГИБП (РТМ) на международном уровне проводится активное сотрудничество с Регистрами ряда стран Европы в рамках глобального международного проекта CERERRA (The European Collaborative REgistrEs for the Evaluation of Rituximab in Rheumatoid Arthritis) [12, 13]. Представляют несомненный интерес данные российских исследователей, свидетельствующие о высокой эффективности моноклональных антител к рецепторам ИЛ 6 — ТЦЗ (исследование ЛОР-НЕТ — Локальное Открытое многоцентровое исследование оценки качества жизни пациентов с умеренной и высокой активностью Ревматоидного артрита и Неадекватным ответом на базисные противовоспалительные препараты при добавлении к терапии Тоцилизумаба) [14], ингибитора ФНО α — ЭТЦ (исследование ЭТАЛОН — Локальное открытое многоцентровое наблюдательное исследование качества жизни на фоне лечения ЭТАнерцептом боЛьных с активным ревматОидным артритом с Неэффективностью базисных противовоспалительных препаратов) [15], а также часть международного исследования PRESERVE [16, 17] и исследование, посвященное изучению пегилированных моноклональных антител к ФНО α — ЦЗТ [18] и адалимумаба (АДА) [19] при РА. Результаты, полученные в этих и других исследованиях, свидетельствуют о высокой эффективности ГИБП у больных РА, резистентных к лечению стандартными противовоспалительными препаратами, которые при раннем назначении способны индуцировать ремиссию более

Таблица 1. Общая характеристика ГИБП, зарегистрированных для лечения аутоиммунных ревматических и других иммуновоспалительных заболеваний человека (аббревиатуры расшифрованы в тексте)

Препарат	Характеристика	Механизм действия	Путь введения	Показания
Инфликсимаб	Химерные моноклональные антитела к ФНО α	Ингибция связывания ФНО с рецептором	в/в	РА, болезнь Крона, язвенный колит, АС, ПсА, бляшечный псориаз
Адалимумаб	Человеческие моноклональные антитела к ФНО α	Ингибция связывания ФНО с рецептором	п/к	РА, болезнь Крона, язвенный колит, АС, ПсА, ЮИА, бляшечный псориаз
Голимумаб	Человеческие моноклональные антитела к ФНО α	Ингибция связывания ФНО с рецептором	п/к	РА, АС, ПсА
Цертолизумаб	Пегилированный Fab'-фрагмент гуманизованных моноклональных антител к ФНО α	Ингибция связывания ФНО с рецептором	п/к	РА, болезнь Крона, АС
Этанерцепт	Рекомбинантный человеческий ФНО-рецептор типа 2, соединенный с Fc-фрагментом IgG человека	Ингибция связывания ФНО с рецептором	п/к	РА, ЮИА, ПсА, АС
Абатацепт	Рекомбинантный внеклеточный домен CTLA-4 человека, соединенный с CH2 и CH3 доменами IgG <sub>1</sub>	Ингибция стимуляции Т клеток	в/в	РА, ЮИА
Тоцилизумаб	Гуманизованные моноклональные антитела к ИЛ-6Р	Блокирование сигнализации ИЛ 6	в/в	РА, полиартикулярный и системный ЮИА
Ритуксимаб	Химерные моноклональные антитела к CD20 антигену В клеток	Истощение CD20 В клеток	в/в	РА, АНЦА-ассоциированный васкулит; СКВ и другие АРЗ (по незарегистрированным показаниям)
Белимумаб	Человеческие моноклональные антитела к BlyS	Блокада активации В клеток	в/в	СКВ
Устекинумаб	Человеческие моноклональные антитела к ИЛ 12/23	Ингибция связывания ИЛ 12 и ИЛ 23 с рецептором	п/к	Псориаз, ПсА
Канакинумаб	Человеческие моноклональные антитела к ИЛ 1β	Ингибция связывания ИЛ 1β с рецептором	п/к	Криопиринассоциированный периодический синдром, системный ювениальный идиопатический артрит, острый подагрический артрит

чем у 1/2 пациентов [20]. Заслуживают внимания наши собственные результаты, касающиеся эффективности и безопасности РТМ при широком круге АРЗ, включая СКВ, ССД, БШ, АНЦА-васкулиты и ПМ/ДМ [21]. Необходимо также подчеркнуть большой вклад НИИР им. В.А. Насоновой в разработку новых противовоспалительных препаратов для лечения РА, таких как ТЦЗ [22] и АБЦ [23, 24], и средства для лечения СКВ белимуаба [25] в рамках международных исследований, послуживших основанием для официальной регистрации этих препаратов.

Современная концепция ведения пациентов с РА представлена в международной программе «Тreat to Target» (T2T) — «Лечение до достижения цели», согласно которой стратегической целью лечения РА является достижение ремиссии [26, 27]. В реализации этой программы активное участие принимают российские ревматологи [28]. Следует напомнить, что в рамках этой стратегии именно метотрексат (МТ) следует рассматривать как основной препарат первой линии при лечении активного РА [29, 30]. Нами инициировано исследование РЕМАРКА (Российское Исследование Метотрексата и биологических препаратов при Раннем активном Артрите), предварительные результаты которого свидетельствуют о том, что раннее интенсивное контролируемое лечение подкожным МТ в виде монотерапии или в комбинации с ГИБП позволяет добиться ремиссии более чем у 1/2 пациентов и снизить стоимость лечения [31, 32]. Все вышеперечисленное послужило основанием для разработки российских рекомендаций Общероссийской общественной организации «Ассоциация ревматологов России» по лечению РА [33].

Поскольку АРЗ, как уже было отмечено, характеризуются быстрым прогрессированием, именно активная противовоспалительная терапия в дебюте болезни увеличивает вероятность достижения ремиссии и снижает риск развития необратимого повреждения внутренних органов и коморбидной патологии. Однако ранняя диагностика АРЗ с использованием только клинических и инструментальных методов исследования нередко затруднена. Изучение молекулярных и клеточных биомаркеров позволяет существенно улучшить раннюю диагностику АРЗ, оценку активности патологического процесса, прогноз заболевания, а также предсказать эффективность лечения, что особенно важно в случае фармакотерапии с применением ГИБП [34–39]. Прогресс в изучении патогенетических механизмов и диагностике АРЗ связан с развитием иммунологических и молекулярно-биологических методов исследования широкого спектра молекулярных и клеточных биомаркеров, включающих аутоантитела, острофазовые белки воспаления, цитокины, хемокины, маркеры активации сосудистого эндотелия, компоненты системы комплемента, субпопуляции лимфоцитов, продукты метаболизма костной и хрящевой ткани, генетические, эпигенетические, транскриптомные маркеры в крови, синовиальной жидкости, моче, биоптатах синовиальной оболочки, почек и других пораженных тканей. Наряду с классическими униклеточными методами иммунодиагностики (иммуноферментный анализ, ИФА; реакция непрямой иммунофлуоресценции, РНИФ; нефелометрия; хемилюминесценция и др.), все шире применяют мультиплексный анализ биомаркеров, основанный на генетических, эпигеномных, транскриптомных и протеомных технологиях с использованием ДНК- и белковых микрочипов, ПЦР, проточной цитометрии. При этом наиболее перспективны в ревматологии протеомные исследования. Универсальным признаком всех АРЗ является гиперпродукция органонеспецифических

аутоантител. К основным серологическим маркерам АРЗ относятся антиядерные антитела (АНА), ревматоидные факторы (РФ), антитела к цитруллинированным белкам (АЦБ), включающие антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) и антитела к циклическому цитруллинированному виментину (АЦМВ), а также антифосфолипидные (АФЛ) и антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА). Положительные результаты определения этих аутоантител входят в число диагностических и классификационных критериев АРЗ (табл. 2), применяются для оценки активности, прогноза и идентификации отдельных клинико-лабораторных субтипов (табл. 3), служат предикторами развития АРЗ на бессимптомной стадии болезни (предболезнь). По нашим данным, серологические тесты, связанные с определением титра аутоантител, составляют основную долю иммунологических исследований в ревматологии (63,6%), при этом наиболее часто производится определение АНА (30%), доля исследований на АЦЦП, РФ и АФЛ составляет около 9%, АНЦА — около 3%, других аутоантител — приблизительно 5% [35]. Следует подчеркнуть, что в реальной практике результаты, касающиеся клинической информативности определения аутоантител, в ряде случаев не совпадают с данными литературы, на основании которых разрабатываются рекомендации по иммунодиагностике АРЗ. Это может быть связано с различиями в методах определения и уровнях позитивности аутоантител, отсутствием международных и отечественных референтных стандартов, а также с особенностями подбора групп пациентов, которым проводятся соответствующие исследования. Все это свидетельствует о необходимости совершенствования подходов к лабораторной диагностике АРЗ.

Особое внимание в последние годы уделяют методическим аспектам определения АНА — гетерогенной группы аутоантител, реагирующих с различными компонентами ядра и цитоплазмы, которые являются основным серологическим маркером АРЗ [35, 39–44]. Согласно международным рекомендациям, «золотым стандартом» и первичным скрининговым методом определения АНА в сыворотке крови является РНИФ с использованием в качестве субстрата клеток линии Нер-2 (эпителиальные клетки рака гортани человека) — РНИФ-Нер-2. В последние годы в практике клинико-диагностических лабораторий широкое распространение получили скрининговые методы определения АНА на основе ИФА и мультиплексных биоаналитических технологий. Однако новые методы твердофазного анализа не могут заменить первичный скрининг АНА с помощью РНИФ-Нер-2, поскольку идентифицируют антитела к ограниченному числу очищенных / рекомбинантных антигенов или смеси антигенов (ядерного гомогената) с измененными, либо утраченными эпитопами, что приводит к увеличению числа ложноотрицательных результатов. С другой стороны, рутинная техника флуоресцентной микроскопии имеет ряд ограничений, к которым относятся методические различия (тип микроскопа, используемые тест-системы и реагенты, время инкубации и др.), субъективная характеристика титра и типа свечения, необходимость длительного обучения персонала, отсутствие квалифицированной экспертной оценки результатов исследования, что приводит к значительной внутри- и межлабораторной вариабельности полученных данных. Разработка автоматизированных систем интерпретации результатов клеточных флуоресцентных тестов создает предпосылки для стандартизации и улучшения воспроизводимости РНИФ при определении АНА и других ауто-



Таблица 2. Аутоантитела, включенные в диагностические и/или классификационные критерии аутоиммунных ревматических заболеваний

Заболевание	Аутоантитела	Диагностические и/или классификационные критерии AP3
Ревматоидный артрит (РА)	Ревматоидный фактор (РФ). Антитела к цитруллинированным белкам (АЦБ)	Классификационные критерии ACR/EULAR (2010)
Системная красная волчанка (СКВ)	Антиядерные антитела (АНА) Антитела к двухспиральной (дс) ДНК (анти-дсДНК) Анти-Sm Анти-SSA/Ro Анти-SSB/La Антифосфолипидные антитела (АФЛ): • Антитела к кардиолипину (АКЛ) • Антитела к $\beta_2$ -гликопротеину I ( $\alpha\beta_2$ -ГП I) • Волчаночный антикоагулянт (ВА) • Ложноположительная реакция Вассермана Прямая проба Кумбса (в отсутствии гемолитической анемии)	Классификационные критерии SLICC (2012)
Системная склеродермия (ССД)	АНА Антитела к топоизомеразе I (Scl-70) (анти- Scl-70) Антицетромерные антитела (АЦА) к CENP-A, CENP-B, CENP-C Антитела к РНК-полимеразе III (анти-РНК-полимеразы III)	Классификационные критерии ACR/EULAR (2013)
Синдром Шегрена (СШ)	Анти-SSA/Ro Анти-SSB/La РФ АНА	Классификационные критерии ACR (2012)
Смешанное заболевание соединительной ткани (СЗСТ)	Анти-U1RNP	Диагностические критерии (1996)
Недифференцированное заболевание соединительной ткани	АНА	Предварительные классификационные критерии (1997)
Антифосфолипидный синдром (АФС)	ВА АКЛ $\alpha\beta_2$ -ГПИ	Классификационные критерии (консенсус; 2006)
Системные васкулиты, ассоциированные с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА-СВ)	АНЦА Антитела к протеиназе 3 (анти-ПР3) Антитела к миелопероксидазе (анти-МПО)	Классификационные критерии (консенсус; 2007)

антител (АНЦА, анти-дсДНК с использованием *Crithidia luciliae*) у больных AP3. В рамках международного сотрудничества нами проведено исследование содержания АНА в сыворотках 1178 больных РЗ методом РНИФ-HEP-2 с помощью набора реагентов AKLIDES® ANA (Medipan GmbH, Германия). Обработку результатов РНИФ-HEP-2 осуществляли с применением автоматизированной платформы AKLIDES (Medipan GmbH, Германия) на основе многопараметрического анализа внутриклеточных структур. Установлено, что автоматизированная платформа AKLIDES позволяет объективно и быстро идентифицировать позитивные и негативные результаты определения АНА, что сопоставимо с классическим визуальным методом интерпретации РНИФ-HEP-2, а также прогнозировать максимальный конечный титр АНА в сыворотках больных AP3 по интенсивности сигнала флуоресценции.

Диагностическими маркерами РА служат IgM/IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ. По нашим данным, АМЦВ обладает наилучшей диагностической чувствительностью, а АЦЦП — специфичностью и отношением правдоподобия положительных результатов. Одновременная оценка концентраций IgM / IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ повышает диагностическую чувствительность (ДЧ) до 90% на ранней и до 92% — на поздней стадии РА (табл. 4). При этом базальное увеличение концентрации АМЦВ коррелирует с прогрессированием деструкции суставов [45]. В последние годы внимание исследователей привлекает поиск новых чувствительных и специфичных лабораторных биомаркеров РА, среди которых наиболее перспектив-

ными для диагностики данного заболевания считаются антитела к карбамилированным белкам (анти-CarP) [46] и белок 14-3-3 $\eta$  [47], который играет важную роль в иммунопатогенезе РА.

Антифосфолипидные антитела являются серологическим маркером АФС, фактором риска тромботических осложнений и акушерской патологии. У больных АФС нами было изучено клиническое значение нового мультипараметрического метода определения АКЛ,  $\alpha\beta_2$ -ГП I, антител к фосфатидилсерину (аФС) и фосфатидилинозитолу (аФИ) классов G и M на основе дот-ИФА. Установлено, что комбинация высокопозитивных уровней всех 4 субтипов АФЛ (IgG / IgM АКЛ,  $\alpha\beta_2$ -ГП I, аФС и аФИ) ассоциируется с увеличением риска развития ишемических нарушений мозгового кровообращения при АФС (OR = 2,45;  $p = 0,049$ ).

Серия исследований была посвящена анализу синтеза цитокинов при различных субтипах и на разных стадиях (ранний и развернутый) РА. Напомним, что в настоящее время IgM РФ и АЦБ рассматривают как различные системы аутоантител, что позволяет выделить два основных клинико-лабораторных субтипа РА (АЦБ-позитивный и АЦБ-негативный), отличающихся по молекулярным механизмам патогенеза, тяжести течения и подходам к лечению. По нашим данным, при раннем РА по сравнению с развернутой стадией заболевания обнаружено достоверное повышение концентрации  $T_{\chi_1}$ - (интерферон  $\gamma$ , ИФН  $\gamma$ ) и  $T_{\chi_{17}}$  (ИЛ 17)-цитокинов, хемокинов (ИП-10, МИФ-1), колониестимулирующих факторов (ИЛ 7, Г-КСФ). У

Таблица 3. Связь аутоантител с клиническими проявлениями аутоиммунных ревматических заболеваний

Аутоантитела	Заболевания	Частота, %	Клинические проявления
Ревматоидный фактор	РА Другие САРЗ	70–90 10–95 (синдром Шегрена)	Тяжелое, быстро прогрессирующее течение; частое развитие коморбидных состояний
Антитела к цитруллинированным белкам	РА	80–98	Тяжелое, быстро прогрессирующее течение; частое развитие коморбидных состояний
Анти-дсДНК	СКВ	70–80	Нефрит, связь с активностью заболевания; поражение кожи
Антитела к нуклеосомам	СКВ	60–90	Нефрит, связь с активностью заболевания; поражение кожи; лекарственная волчанка
Антитела к Sm-антигену	СКВ	10–30	Нефрит
Антитела к маленькому ядерному рибонуклеопротеину (сплайсосома, U1RNP, 70 кДа, А, С)	СКВ перекрестный синдром, СЗСТ	15–25	Феномен Рейно, миозит, ЛАГ, артрит, плотный отек кистей, гипергаммаглобулинемия
Антитела к N-метил-D-аспартат рецептору (N-methyl-D-aspartate receptor)	СКВ	30–50	Поражение ЦНС
Антитела к рибосомальному белку P0, P1, P2	СКВ	4–12	Нейропсихические проявления, гепатит
Антитела к гистонам	СКВ	–	Лекарственная волчанка
Антитела к фосфолипидам (ВА, АКЛ, α <sub>2</sub> -ГПИ, протромбин)	СКВ	20–30	Тромбозы, акушерская патология, сетчатое ливедо, утолщение клапанов сердца
Антитела к α-актину	СКВ	20	Поражение почек
Анти-С1q	СКВ	40–50	Нефрит, коррелируют с активностью заболевания
Антитела к SSA/Ro (60 и 52/TRIM 21)	СКВ, синдром Шегрена	30–40	При СКВ — поражение почек (при отсутствии антител к SSB/La), поражение кожи, фотосенсибилизация; неонатальный волчаночный синдром и полная поперечная блокада; «сухой» синдром, подострая кожная красная волчанка, гипергаммаглобулинемия, лейкопения; при синдроме Шегрена — интерстициальный нефрит и увеличение риска развития неходжскинской лимфомы
Антитела к SSB/La	СКВ, синдром Шегрена	15–20	При СКВ — неонатальный волчаночный синдром и полная поперечная блокада; «сухой» синдром, подострая кожная красная волчанка, гипергаммаглобулинемия, лейкопения; при синдроме Шегрена — интерстициальный нефрит и увеличение риска развития неходжскинской лимфомы
Антитела к α-фодрину	СКВ и синдром Шегрена	46–100 (синдром Шегрена); 30 (СКВ)	Сухой синдром
Антитела к центромере	ССД	15–40	Лимитированная форма, ЛАГ
Антитела к к Scl-70/ топоизомеразе I	ССД	10–40	Диффузная форма, легочный фиброз
Антитела к топоизомеразе III	ССД	5–25	Диффузная форма, почечный криз, ЛАГ
Анти-Tx/To	ССД	Редко	ЛАГ, интерстициальное заболевание легких, поражение кишечника, лимитированное поражение кожи
Анти-U11/U12	ССД	Редко	Интерстициальное заболевание легких
Анти-Ku	СКВ, ССД, СКВ/ ПМ/ССД и ПМ/ ССД перекрестный синдром	Редко	Миозит, артрит
Антитела к аминоксилсинтезам т-РНК (анти-Jo-1, PL-7, PL-12, EJ, OJ, KS, Zo, YRS)	ПМ/ДМ	20–30	Анти-синтезный синдром (миозит, интерстициальное поражение легких, рука механика, феномен Рейно)
Антитела к частицам сигнального распознавания	ПМ/ДМ	2–8	Некротизирующая миопатия
Антитела к Mi-2	ПМ/ДМ	8–20	Дерматомиозит и идиопатические воспалительные миопатии
Антитела к TRIM33	ДМ	10–30	Опухоли
Антитела к PM/Scl	ПМ/ДМ	12–16	Перекрестный синдром ИВМ и ССД
Антитела к CADM-140/MDA-5 (clinically amyopathic dermatomyositis/anti-melanoma-differentiation-associated gene 5)	ПМ/ДМ	Редко	Амиопатический миозит (53%) в сочетании с интерстициальными заболеваниями легких
АНЦА	Системные некротизирующие васкулиты	50	Связь с активностью заболевания, риск развития обострения

Таблица 4. Диагностическое значение IgM РФ, АЦЦП и АМЦВ при ревматоидном артрите (аббревиатуры расшифрованы в тексте)

Параметры	Ранний РА (n=102)				
	IgM РФ	IgA РФ	АЦЦП	АМЦВ	IgM РФ+IgA РФ+АЦЦП+АМЦВ
ДЧ, %	67	71	59	69	90
ДС, %	79	83,5	87	81	80
ОППР	3,2	4,3	4,5	3,6	4,5
ОПОР	0,4	0,3	0,4	0,4	0,1
ППК	0,8	0,9	0,7	0,8	0,9
РА (n=891)					
ДЧ, %	67	82	75	85	92
ДС, %	79	83,5	87	81	78
ОППР	3,2	4,9	5,8	4,5	4,1
ОПОР	0,4	0,2	0,3	0,2	0,1
ППК (AUC)	0,8	0,9	0,8	0,8	0,95

Примечание. ДЧ — диагностическая чувствительность, ДС — диагностическая специфичность, ОППР — отношение правдоподобия положительных результатов, ОПОР — отношение правдоподобия отрицательных результатов, ППК (AUC) — площадь под кривой (ROC-анализ).

АЦБ-позитивных больных отмечено более существенное увеличение концентрации провоспалительных (ФНО α, ИЛ 6), T<sub>x1</sub> (ИФН γ, ИЛ 2, эотаксин) и T<sub>x2</sub> (ИЛ 9 и 10) цитокинов, чем при АЦБ-негативном субтипе болезни (рис. 1). При этом сывороточные уровни исследованных цитокинов достоверно отражают концентрацию данных биомаркеров в непосредственной близости от очага воспаления — в синовиальной жидкости.

Развитие протеомных технологий и накопление информации об особенностях белкового профиля при РА стали предпосылками к созданию комплексных лабораторных индексов, основанных на многопараметрическом анализе лабораторных биомаркеров, так называемые многопараметрические диагностические индексы (МДИ) [48]. Среди них важное клиническое значение имеет мультибиомаркерный индекс активности РА (multi-biomarker disease activity score, MBDA) (Vectra DA). Многостадийный анализ и валидация 136 протеомных маркеров позволили выбрать 12 белков, играющих ключевую роль в патогенезе РА и имеющих наиболее высокую степень связи со значениями индекса DAS28-СРБ и его компонентов (числом болезненных и припухших суставов, оценкой общего состояния здоровья пациентом). В состав MBDA вошли: сосудистая клеточная молекула адгезии (VCAM-1), эпидермальный фактор роста (EGF), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), ИЛ 6, растворимый (р) рецептор (Р) ФНО I типа (рФНО-PI), матриксные металлопротеиназы (ММП-1, -3), хрящевой гликопротеин-39 (ΥKL-40), лептин, резистин, С-реактивный (СРБ)

и сывороточный амилоидный белок А (SAA). В настоящее время MBDA является единственным клинически апробированным многопараметрическим лабораторным индексом, применяемым для оценки активности, прогнозирования степени прогрессирования деструктивного поражения суставов и мониторинга эффективности проводимой терапии при РА, который нашел применение в реальной клинической практике. Установлена достоверная корреляция значений MBDA с динамикой индексов активности DAS28-СОЭ, DAS28-СРБ, СDAI, SDAI и прогрессированием деструкции суставов у больных РА, получающих терапию МТ, ГИБП (ингибиторы ФНО α, ТЦЗ) и ингибитором JAK-киназы тофациитинибом. Нами проводился комплекс иммунологических исследований, который включает определение в сыворотке крови содержания 36 биомаркеров — IgM и IgA РФ, АЦЦП, АМЦВ, АКА, СРБ, кальпротектина, растворимого лиганда рецептора активатора фактора транскрипции κB (pRANKL), олигомерного матриксного белка хряща (COMP) и матриксной металлопротеиназы-3 (ММП-3), 27 цитокинов, хемокинов и факторов роста — методами ИФА, иммунонефелометрии, непрямой иммунофлуоресценции, с использованием мультиплексной технологии X-MAP [49]. По результатам исследований создан оригинальный МДА — МИРРА (многопараметрический индекс раннего ревматоидного артрита), компоненты которого отражают воспалительную активность РА (СРБ, ИЛ 6), аутоиммунные нарушения (АЦЦП), иммунный ответ по T<sub>x1</sub>-типу (ИФН γ), активацию процессов гемопоэза (ГМ-КСФ) и

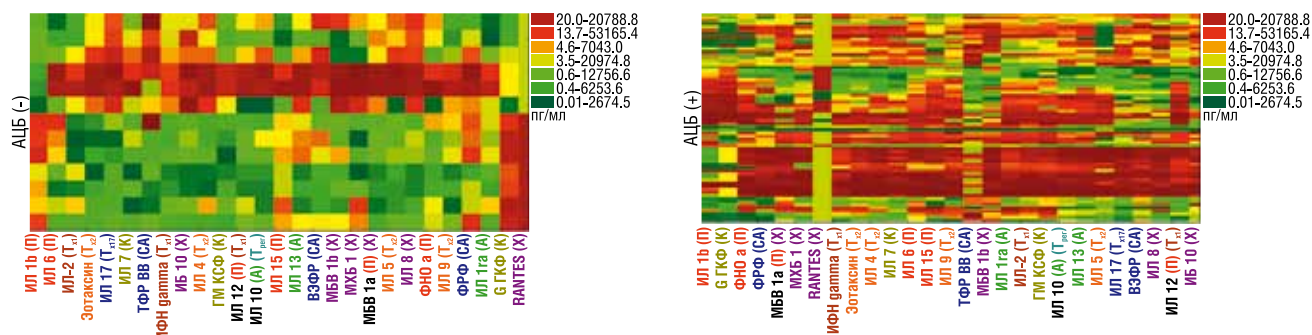


Рис. 1. Цитокиновый профиль АЦБ-негативных (А) и АЦБ-позитивных (Б) пациентов с ревматоидным артритом.

Примечание. (П) — провоспалительные цитокины, (А) — противовоспалительные цитокины, (T<sub>x1</sub>) — цитокины Т клеток-хелперов 1-го типа, (T<sub>x2</sub>) — цитокины Т клеток-хелперов 2-го типа, (T<sub>x17</sub>) — цитокины Т клеток-хелперов 17-го типа, (T<sub>рег</sub>) — цитокины Т регуляторных клеток, (К) — колониестимулирующие, (СА) — стромальные и ангиогенные цитокины, (X) — хемокины.



**Таблица 5.** Диагностические характеристики входящих в МИРРА биомаркеров при раннем ревматоидном артрите

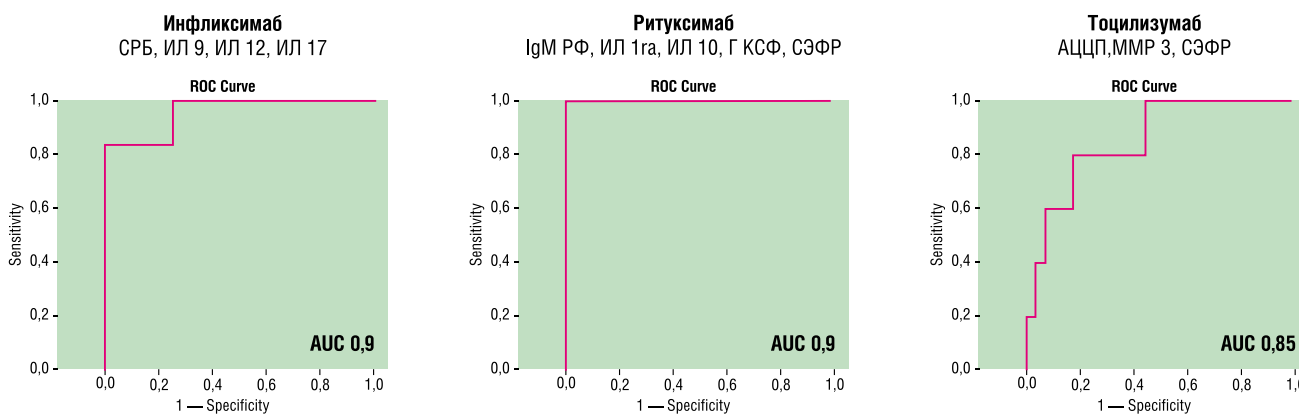
Параметры	ИЛ 6	СРБ	ГМ-КСФ	ИФН $\gamma$	ИБ 10	АЦЦП	МИРРА
ДЧ, %	64	75	47	50	69	64	97
ДС, %	99	99	99	99	94	94	94
ОППР	64	75	47	50	11,5	11	16,1
ОПОР	0,4	0,2	0,5	0,5	0,3	0,4	0,03
ППК (AUC)	0,9	0,9	0,85	0,98	0,88	0,87	0,98
95% ДИ	0,81–0,99	0,82–0,98	0,76–0,95	0,81–0,98	0,77–0,99	0,77–0,97	0,95–1,01

*Примечание.* ДЧ — диагностическая чувствительность, ДС — диагностическая специфичность, ОППР — отношение правдоподобия положительных результатов, ОПОР — отношение правдоподобия отрицательных результатов, ППК (AUC) — площадь под кривой (ROC-анализ), ДИ — доверительный интервал.

хемотаксиса (ИБ-10). При диагностике раннего РА МИРРА обладает высокой ДЧ и ДС (97 и 94%, соответственно), превосходя IgM РФ (59 и 79%, соответственно) по обоим параметрам, а АЦЦП (71 и 97%, соответственно) — по ДЧ (табл. 5). Таким образом, после валидации МИРРА может рассматриваться как высокоточный серологический тест для ранней диагностики РА. Очевидно, что мультипараметрический анализ протеомных биомаркеров позволяет более объективно охарактеризовать сложность и многообразие молекулярных механизмов патогенеза РА. Применение МДИ, обладающих более высокой клинической информативностью по сравнению с классическими методами иммунологических исследований, является качественно новым уровнем в ранней диагностике, определении активности и прогнозировании эффективности терапии ГИБП при РА.

Достижения молекулярной биологии, фармакогенетики и биоинформатики создали предпосылки для индивидуализации терапии РА в рамках концепции персонализированной (personalized) медицины [50]. Снижение стоимости определения биомаркеров воспаления и деструкции суставов и особенно генетических / геномных исследований дает возможность внедрить персонализированный подход к лечению пациентов в реальной клинической практике. Термин «персонализированная медицина» подразумевает своевременный выбор наиболее эффективного и безопасного препарата для каждого пациента с учетом преобладающих механизмов патогенеза, стадии (ранняя, развернутая, поздняя) и характера течения (быстро или медленно прогрессирующий) заболевания, особенностей коморбидной патологии, потенциальных лекарственных взаимодействий и др. Биомаркеры, привлекающие внимание в рамках проблемы

персонализированной медицины, включают характеристику генов-кандидатов, широкомасштабный скрининг генома, экспрессию генов цитокинов в клетках периферической крови и тканях, концентрацию цитокинов и других белков (протеомика) в периферической крови, изучение субпопуляций лимфоцитов в крови и биоптатах пораженных тканей [50]. Их подразделяют на 3 основные категории: диагностические биомаркеры, позволяющие проводить раннюю диагностику заболевания; прогностические биомаркеры, позволяющие оценить прогноз (например, скорость прогрессирования деструктивных изменений в суставах); фармакотерапевтические биомаркеры, позволяющие оценить динамику активности заболевания на фоне терапии, а также предсказать чувствительность (или резистентность) к данному препарату и риск развития нежелательных явлений. Согласно другой классификации, биомаркеры разделяют на 2 группы: описательные (descriptive), которые позволяют оценивать активность воспаления и токсические реакции лекарственных препаратов, и механистические (mechanistic), которые могут иметь патогенетическое значение в развитии заболеваний. К последним относятся аутоантитела, «автограф» экспрессии генов (gene-expression signature), цитокины, клетки иммунной системы и маркеры генетической предрасположенности [51]. Однако в настоящее время, отсутствуют убедительные данные о возможности использования базального уровня цитокинов (или других биомаркеров) в качестве предиктора эффективности терапии ГИБП при РА. На основании исследования широкого спектра биомаркеров нами выделены те из них, которые наиболее тесно связаны с наличием клинического ответа на терапию ГИБП (ИНФ, РТМ и ТЦЗ). Эти данные позволили создать МДИ, позволяющий с доста-



**Рис. 2.** Клинический ответ у пациентов с ревматоидным артритом на фоне терапии ГИБП.

*Примечание.* AUC — площадь под кривой (ROC-анализ)..

точной долей вероятности прогнозировать клинический ответ у пациентов с РА на фоне терапии ГИБП, что имеет большое значение для развития персонализированного направления лечения этого заболевания (рис. 2). Кроме того, была проанализирована динамика концентрации аутоантител у пациентов с ранним и развернутым РА на фоне терапии базисными противовоспалительными препаратами и ГИБП. В группе пациентов с ранним РА отмечено достоверное снижение уровня IgM РФ уже через 12 нед лечения МТ, а отрицательная сероконверсия по IgM РФ регистрировалась у 1/3 пациентов. При развернутом РА уровень IgM РФ на фоне применения МТ достоверно не изменялся. При использовании РТМ достоверное снижение уровня IgM РФ было зарегистрировано через 8 нед терапии и сохранялось на протяжении 24 нед. У 20% IgM РФ-положительных больных РА произошла отрицательная сероконверсия, и при повторном исследовании IgM РФ не выявлялся. Концентрация IgA РФ снижалась уже через 2 нед после первой инфузии РТМ. При использовании ТЦЗ достоверное уменьшение концентрации IgM РФ (реже IgA РФ) было зафиксировано очень рано — спустя 2 нед лечения. Только у небольшого числа больных (примерно 10%) произошла сероконверсия в IgM РФ-негативные результаты. Уровень АЦЦП оставался высоким на всем протяжении терапии всеми препаратами. Отрицательная сероконверсия по АЦЦП зарегистрирована только у 7% пациентов, получавших РТМ, и 5% больных, лечившихся ТЦЗ. Напротив, уровень другой разновидности АЦБ — АМЦВ в сыворотке крови — достоверно снижался через 8, 16 и 24 нед от начала применения как РТМ, так и ТЦЗ. При изучении взаимосвязи между титром аутоантител и клинической эффективностью терапии РТМ и ТЦЗ при РА установлено, что среди пациентов, достигших ремиссии (DAS 28 <2,6), имел место более высокий базальный уровень IgM РФ по сравнению с больными, у которых сохранялась активность заболевания ( $p < 0,05$ ). При этом у пациентов с негативными / низкопозитивными значениями IgM РФ, базальным уровнем IgM менее 2,4 г/л, а также длительностью заболевания более 3 лет, ремиссия по DAS 28 достигалась реже, чем в группе больных с высокопозитивными титрами IgM РФ ( $p = 0,035$ ), базальным уровнем IgM более 2,4 г/л ( $p = 0,016$ ), и меньшей длительностью заболевания ( $p = 0,001$ ). Кроме того, среди больных РА, достигших ремиссии (индекс CDAI), отмечен более высокий исходный уровень АМЦВ по сравнению с пациентами, у которых сохранялась активность патологического процесса ( $p = 0,02$ ). Пациенты с

высокопозитивными результатами определения АМЦВ в сыворотке крови с большей вероятностью достигали ремиссии заболевания (индекс CDAI) на фоне терапии ТЦЗ, чем АМЦВ-негативные ( $p = 0,03$ ). Обращает на себя внимание тот факт, что на фоне лечения как РТМ, так и ТЦЗ отмечено снижение концентрации основных классов иммуноглобулинов, что свидетельствует об определенных анти-В-клеточных эффектах не только РТМ, но и ТЦЗ. Это может иметь существенное значение для расшифровки механизмов действия препаратов, ингибирующих активность важного противовоспалительного цитокина — ИЛ 6.

Большой интерес представляют наши данные, касающиеся динамики уровня ММП-3 (стромелизин). Напомним, что ММП представляют собой группу более чем из 20 протеолитических ферментов, ответственных за расщепление белковых компонентов экстрацеллюлярного матрикса, однако именно ММП-3 рассматривается как один из ключевых медиаторов суставной деструкции, вызывает потерю протеогликанов, а также активацию проферментов других ММП. Полагают, что сывороточный уровень ММП-3 может являться полезным маркером активности заболевания и суставной деструкции [52]. По нашим данным [52], исходное содержание ММП-3 в группе пациентов с ранним РА было достоверно выше по сравнению с нормой. Выявлена положительная корреляция базального уровня ММП-3 с показателями активности заболевания (DAS 28, SDAI, CDAI), уровнем острофазовых показателей (СОЭ, СРБ), аутоантител (IgM РФ), провоспалительных цитокинов и факторов роста (ИЛ 6, VEGF). Достоверное снижение содержания ММП-3 отмечено на фоне лечения МТ, РТМ и ТЦЗ. Примечательно, что базальный уровень ММП-3 ассоциировался с клинической эффективностью подкожного МТ при раннем РА. По данным ROC-анализа, исходный уровень ММП-3 более 54,6 нг/мл, а также сохраняющийся повышенный уровень данного показателя через 12 нед лечения МТ (более 25,1 нг/мл) ассоциируется с отсутствием эффекта МТ через 52 нед и необходимостью назначения комбинированной терапии, включающей ГИБП (AUC 0,78; 95% ДИ 0,63–0,93 и AUC 0,96; 95% ДИ 0,54–0,86, соответственно; рис. 3). Определение содержания ММП-3 полезно для прогнозирования сохранения ремиссии / низкой активности болезни на фоне терапии ТЦЗ. По данным ROC-анализа, нормализация уровня ММП-3 у больных РА через 24 нед лечения (cut off  $\leq 16,5$  нг/мл) ассоциировалась с сохранением ремиссии / низкой активности болезни (индексы

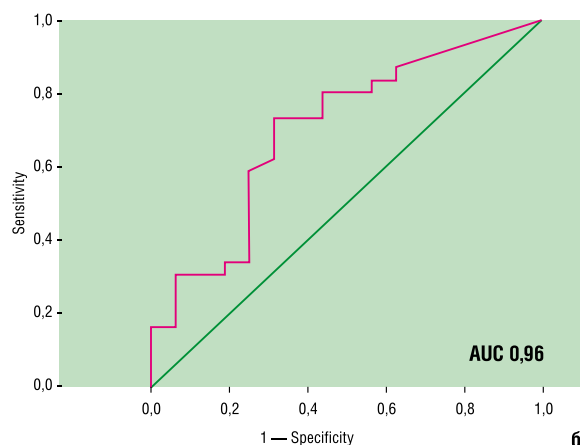
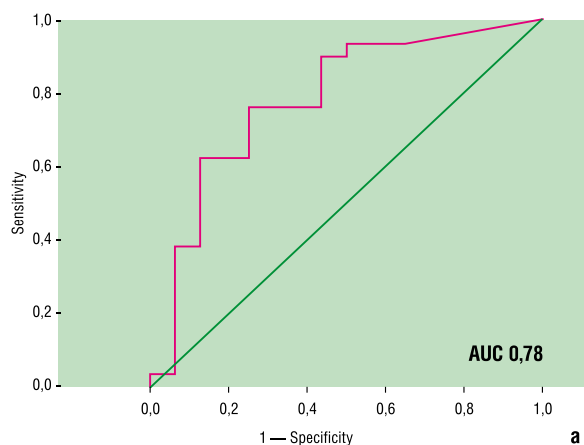
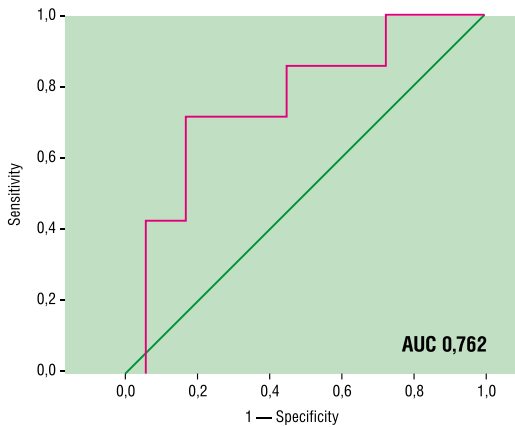


Рис. 3. ROC-кривая, отражающая взаимосвязь содержания ММП-3 исходно (а) и через 12 нед лечения (б), с клинической эффективностью метотрексата для подкожного введения.

Примечание. AUC — площадь под кривой (ROC-анализ).



**Рис. 4.** ROC-кривая, отражающая клиническую информативность определения содержания ММП-3 на 24-й нед лечения тоцилизумабом для прогнозирования сохранения ремиссии/низкой активности болезни по SDAI и CDAI через 24 нед после окончания применения препарата.

*Примечание.* AUC — площадь под кривой (ROC-анализ).

SDAI и CDAI) через 24 нед после прекращения применения препарата (AUC 0,762; 95% ДИ 0,548–0,976; рис. 4). В других наших исследованиях показано, что среди пациентов с ранним РА на фоне монотерапии подкожным МТ через 12 нед лечения имело место снижение концентрации провоспалительных (ИЛ 6 и 17, ФНО α), противовоспалительных (ИЛ 4, 5, 9, 13) цитокинов, хемокинов (ИП-10) и факторов роста (ФРФ) ( $p < 0,05$ ); к 24-й нед происходило снижение содержания ИЛ 6 и 9, ИП-10, PDGF-bb, а также повышение концентрации ИЛ 10 ( $p < 0,05$ ). Через 12 нед среди «ответчиков» на терапию МТ выявлено достоверное снижение концентрации ИЛ-1РА, ИЛ 2, 4, 6, 7, 9, 13, а также IP-10, ФНО α и VEGF [53]. Таким образом, отсутствие динамики уровня некоторых цитокинов через 12 нед лечения МТ можно рассматривать в качестве возможного предиктора недостаточной эффективности препарата, и оно, вероятно, позволит выделить группу пациентов с тяжелым течением заболевания, нуждающихся в более агрессивной комбинированной терапии с применением ГИБП. Продолжаются исследования, касающиеся ранних предикторов эффективности терапии ГИБП, что имеет существенное значение для разработки подходов к персонализированной терапии РА.

В настоящее время показано, что ГИБП обладают потенциальной иммуногенностью, характеризующейся способностью индуцировать у пациента нежелательный иммунный ответ с образованием антител, направленных против новых чужеродных эпитопов [54]. При лечении АРЗ иммуногенность ГИБП ассоциируется с изменением фармакокинетики и уменьшением сывороточной концентрации данной группы лекарственных средств до субоптимального уровня; снижением клинического ответа на проводимую терапию; развитием тяжелых инфузионных реакций. В ряде случаев перекрестная реактивность антител к ГИБП может вызывать аутоиммунные нарушения. Снижение терапевтической эффективности ГИБП при связывании с антителами опосредуется двумя основными механизмами: нейтрализацией функционально активных участков молекул лекарственного продукта и усилением его клиренса через образование иммунных комплексов, что уменьшает биодоступность препарата. Иммуногенность ГИБП зависит от их структуры, способа применения, а также совокупности клинических факторов, связанных с особенностями заболевания у пациента. Лабораторная оценка иммуногенности ГИБП

включает измерение сывороточной концентрации самих препаратов ГИБП и антител к ним при помощи ИФА и радиоиммуноанализа (РИА). Нами была изучена оптимальная терапевтическая концентрация человеческих моноклональных антител к ФНО α — АДА, ассоциирующаяся с эффективностью терапии этим препаратом при РА. Показано, что ответ на лечение (критерии EULAR) через 12 нед ассоциировался с уровнем АДА в сыровотке крови  $\geq 2,85$  мкг/мл (AUC 0,87 с чувствительностью 80% и специфичностью около 100%); уровень АДА  $> 4,9$  мкг/мл к 24-й нед ассоциировался с достижением ремиссии/низкой активности болезни по SDAI (AUC 0,66; 95% ДИ 0,4–0,9). Отмечено также, что у пациентов с низким уровнем АДА имела тенденция к более высокой активности заболевания (DAS 28) по сравнению с больными с адекватным уровнем препарата ( $p = 0,08$ ). Через 24 нед терапии в группе больных с низким уровнем АДА отмечены более высокие значения DAS 28, СОЭ и СРБ, чем у пациентов с адекватным уровнем АДА в сыровотке крови ( $p < 0,05$ ). Выявлена отрицательная корреляция между уровнем АДА и DAS 28 ( $r = -0,46$ ;  $p = 0,04$ ), СРБ ( $r = -0,54$ ;  $p = 0,02$ ) и СОЭ ( $r = -0,5$ ;  $p = 0,02$ ). При изучении концентрации античеловеческих антител (АЧА) установлено, что через 24 нед лечения у больных, позитивных по АЧА, наблюдалось отсутствие клинического эффекта ( $\Delta$ DAS28:  $-3,08$  и  $0,12$ ), уровень АДА у пациентов этой группы составил 1,02 и 14,8 мкг/мл. При отсутствии АЧА лечение было неэффективным только у 2 из 18 (11%) больных. Эти данные свидетельствуют о перспективах фармакокинетических исследований ГИБП для прогнозирования их эффективности и в целом совершенствования подходов к персонализированной терапии АРЗ.

По современным представлениям, В лимфоциты принимают участие в развитии и поддержании аутоиммунных нарушений не только в качестве эффекторных клеток, являясь предшественниками аутоантителопродуцирующих плазматических клеток или В клеток памяти, но и как иммунорегуляторные клетки, способные презентировать антигены Т лимфоцитам, индуцировать активацию Т клеток, дифференцировку фолликулярных дендритных клеток, эктопический лимфонеогенез и синтез цитокинов (ФНО α, ИЛ 1, 6, 10, лимфотоксина и др.) [9]. В процессе созревания от клеток-предшественников до секретирующих антитела плазматических клеток В лимфоциты проходят несколько последовательных стадий, каждая из которых фенотипически характеризуется экспрессией на поверхности клеток молекул иммуноглобулинов различных классов и определенным набором мембранных CD-антигенов. Основными поверхностными маркерами, используемыми для современной классификации периферических В клеток человека, являются мембранные антигены CD19, IgD, CD38 и CD27. Нами разработана методика многоцветной проточной цитофлуориметрии с использованием панели моноклональных антител к поверхностным мембранным маркерам В лимфоцитов для определения CD19+ В клеток, общей популяции В клеток памяти (CD19+CD27+), непереклоченных (CD19+IgD+CD27+) и переклоченных (CD19+IgD-CD27+) В клеток памяти, наивных (CD19+IgD+CD27-) и транзитных (CD19+IgD+CD10+CD38++CD27-) В клеток, плазмобластов (CD19+CD38+++ IgD-CD27+CD20-) и долгоживущих плазматических клеток (CD19+CD138+) периферической крови. По нашим данным, у больных РА процентное содержание общей популяции В клеток памяти было ниже, чем у доноров. При СКВ отмечено уменьшение числа наивных В клеток и увеличение по-



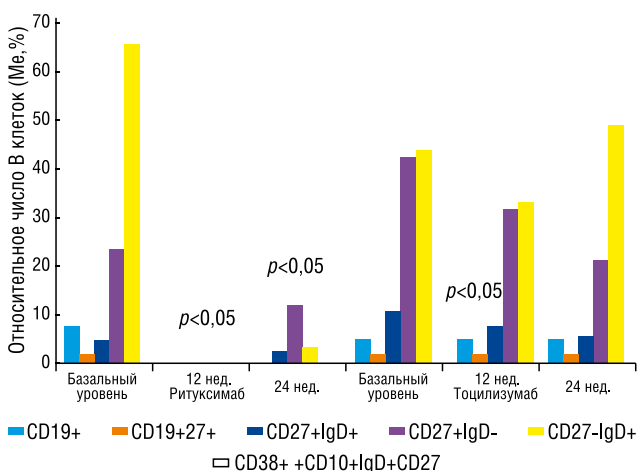
**Таблица 6.** Субпопуляции В лимфоцитов периферической крови у здоровых доноров и пациентов с ревматоидным артритом и системной красной волчанкой

Показатели	Me (ИР: 25–75), %		
	Доноры (n =27)	РА (n =16)	СКВ (n =9)
CD19+В клетки	9,1 (6,6–11,6)	5,7 (3,1–10,7)	4,9 (3,3–10,3)
В клетки памяти (общая популяция) CD19+CD27+	2,2 (1,6–3,3)	1,6 (1,00 – 2,3)*	1,8 (1,3–2,4)
Непереключенные В клетки памяти CD19+CD27+IgD+	10 (6,4–12,7)	7,4 (3,5–10,4)	6,3 (1,6–10,5)
Переключенные В клетки памяти CD19+CD27+IgD-	17,7 (14,9–27,0)	22,9 (16,4–42,3)	34,2 (21,0–52,7)*
Наивные В клетки CD19+CD27-IgD+	65,8 (55,1–73,4)	58,7 (39,7–68,7)	40,2(19,7–58,2)*
Транзиторные В клетки CD19+CD38+++CD10+ IgD+ CD27-	0,1 (0,1–0,3)	0,1 (0,05–0,2)	0,2 (0,1–0,3)
Плазмобласты CD19+CD38+++ CD27+ IgD- CD20-	7,0 (5,0–9,4)	4,3 (2,9–9,7)	3,0 (2,3–9,4)
Долгоживущие плазмциты CD19+ CD138+++	0,0–0,0	0,0–0,0	0,0–0,0

Примечание. Me — медиана, ИР — интерквартильный размах, РА — ревматоидный артрит, СКВ — системная красная волчанка. \* —  $p < 0,003$  по сравнению с донорами.

пуляции переключенных В клеток памяти по сравнению с донорами (в обоих случаях  $p = 0,003$ ; табл. 6). Все применяемые в ревматологии ГИБП потенциально могут оказывать влияние на В-клеточный гомеостаз у больных РА, СКВ и другими АРЗ, однако в целом эффективность терапии во многом зависит от степени подавления В клеток памяти и скорости их восстановления/репопуляции в крови [55]. По нашим данным, одним из общих свойств ГИБП разных классов является восстановление В-клеточного гомеостаза: нормализация содержания периферических В клеток памяти, увеличение пула наивных В клеток и уменьшение продукции аутоантител. Так, у больных РА на фоне лечения РТМ отмечается полная деплеция CD19+ клеток, а через 24 нед происходит репопуляция переключенных / непереключенных В клеток памяти и наивных В лимфоцитов; на фоне терапии ТЦЗ обнаружено уменьшение числа транзиторных В клеток (рис. 5). Прогностическое значение динамики субпопуляций В клеток на фоне лечения требует дальнейшего изучения.

Важными факторами, контролирующими рост, выживание и дифференцировку аутореактивных В клеток, являются 2 цитокина, относящиеся к семейству ФНО  $\alpha$ : BAFF / BLYS (B-cell activation factor — В-клеточный акти-



**Рис. 5.** Субпопуляции В лимфоцитов периферической крови человека на фоне лечения ритуксимабом и и тоцилизумабом.

вационный фактор/B-lymphocyte stimulator — В-лимфоцитарный стимулятор) и APRIL (a proliferation-inducing ligand — индуцирующий пролиферацию лиганд) [56]. Данные о клиническом значении BAFF / BLYS и APRIL при АРЗ противоречивы. По нашим данным, увеличение сывороточной концентрации факторов активации В клеток BAFF и APRIL имеет место примерно у 20% больных РА. При этом увеличение концентрации APRIL умеренно коррелировало с активностью заболевания ( $p = 0,054$ ). Напротив, при СКВ повышение уровня APRIL четко ассоциировалось с высокой активностью патологического процесса (SLEDAI 2K  $\geq 8$ ), концентрацией СРБ ( $p < 0,01$ ), антител к дсДНК ( $p < 0,05$ ), креатинина ( $p < 0,05$ ), абсолютным числом CD19+ В лимфоцитов ( $p < 0,05$ ) в крови. Очевидно, что определение концентрации APRIL может иметь значение для совершенствования подходов к оценке активности СКВ.

Таким образом, прогресс лабораторной диагностики АРЗ обусловлен все более широким внедрением в клиническую практику новых высокопроизводительных методов иммунного анализа с использованием автоматизированных систем и мультиплексных протеомных технологий. Актуальной проблемой лабораторной диагностики САРЗ является стандартизация современных методов выявления аутоантител, в т.ч. создание международных референтных материалов для калибровки и внешней оценки качества иммунологических тестов. Применение комплексных диагностических индексов, основанных на многопараметрическом анализе лабораторных биомаркеров в сыворотке крови, позволяет наиболее полно и объективно оценить сложные молекулярные механизмы патогенеза АРЗ и тем самым радикально улучшить раннюю диагностику, оценку активности и тяжести заболевания, прогнозирование исходов патологического процесса и ответа на проводимое лечение, в рамках концепции персонализированной таргетной терапии этих заболеваний.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Cho J.H., Gregersen P.K. Genomics and the multifactorial nature of human autoimmune disease. *New Engl. J. Med.* 2011; 365: 1612–1623.
2. Wahren-Herlenius M., Dorner T. Immunopathogenetic mechanisms of systemic autoimmune diseases. *Lancet.* 2013; 382: 819–831.
3. McInnes I.B., Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *New Engl. J. Med.* 2011; 365: 2205–2219.
4. Lopalco G., Cantini L., Vatale A., Iannone F., Anelli M.G., Andreozzi L., Lapadula G., Galeazzi M., Rigante D. Interleukin-1 as a common denomination from autoinflammatory to autoimmune disorders: premises, perils, and perspectives. *Mediators Inflamm.* 2015; ID 194864.
5. McGonagle D., McDermott M.F. A proposed classification of the immunological diseases. *PLoS Med.* 2006; 3: 1242–1248.
6. Насонов Е.Л., Насонова В.А. Ревматология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2008. С. 290–331.
7. Goldblatt F., O'Neill S.G. Clinical aspects of autoimmune rheumatic diseases. *Lancet.* 2013; 382: 797–808.
8. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Авдеева А.С., Рубцов Ю.П. Т-регуляторные клетки при ревматических заболеваниях. *Научно-практическая ревматология.* 2014; 52: 430–437.
9. Анти-В-клеточная терапия в ревматологии: фокус на ритуксимаб. Под ред. Е.Л. Насонова. М.: ИМА-ПРЕСС. 2012. 344 с.
10. Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматоидного артрита. Под ред. Е.Л. Насонова. М.: ИМА-Пресс. 2013. 552 с.
11. Murphy G., Lisnevskaja L., Isenberg D. Systemic lupus erythematosus and other autoimmune rheumatic diseases: challenges to treatment. *Lancet.* 2013; 382: 809–818.
12. Chatzidionysiou K., Lie E., Nasonov E., Lukina G., Hetland M.L., Tarp U., Ancuta I., Pavelka K., Nordström D.C., Gabay C., Canhão H., Tomsic M., van Riel P.L., Gomez-Reino J., Kvien T.K., van Vollenhoven R.F. Highest clinical effectiveness of Rituximab in autoantibody-positive patients with rheumatoid arthritis and in those for whom no more than one previous TNF antagonist has failed: pooled data from 10 European registries. *Ann. Rheum. Dis.* 2011; 70: 1575–1580.
13. Chatzidionysiou K., Lie E., Nasonov E., Lukina G., Hetland M.L., Tarp U., van Riel P.L., Nordström D.C., Gomez-Reino J., Pavelka K., Tomsic M., Kvien T.K., van Vollenhoven R.F., Gabay C. Effectiveness of disease-modifying antirheumatic drug co-therapy with methotrexate and leflunomide in Rituximab treated rheumatoid arthritis patients: results of a 1 year follow-up study from the CERERRA collaboration. *Ann. Rheum. Dis.* 2012; 71: 374–377.
14. Панасюк Е.Ю., Амирджанова В.Н., Авдеева А.С., Лучихина Е.Л., Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Опыт применения тоцилизумаба у больных ревматоидным артритом (по данным многоцентрового исследования ЛОР-НЕТ). *Научно-практическая ревматология.* 2013; 21 (5): 104–110.
15. Пчелинцева А.О., Панасюк Е.Ю., Рябицева О.Ф., Мазуров В.И., Салихов Ш.Г., Сизиков А.Э., Иванова О.Н., Сороцкая В.Н., Семагина О.В., Виноградова И.Б., Куликов А.И., Денисов Л.Н., Насонов Е.Л. Применение этанерцепта у больных ревматоидным артритом (результаты российского многоцентрового исследования ЭТАЛОН). *Научно-практическая ревматология.* 2013; 51: 639–645.
16. Pavelka K., Szekanecz Z., Damjanov N., Majdan M., Nasonov E., Mazurov V., Fabo T., Bananis E., Jones H., Szumski A., Koenig A.S., Tang B., Kotak S., Vasilescu R. Induction of response with etanercept methotrexate therapy in patients with moderate active rheumatoid arthritis in Central and Eastern Europe in the preserve study. *Clinical Rheumatology.* 2013; 32: 1275–1281.
17. Smolen J.S., Nash P., Durez P., Hall S., Ilivanova E. Maintenance, reduction or withdrawal of Etanercept: a randomized controlled trial in moderate rheumatoid arthritis patients achieving low disease activity with etanercept methotrexate therapy. *Lancet.* 2013; 381 (91): 918–929.
18. Каратеев Д.Е., Насонов Е.Л., Денисов Л.Н., Мазуров В.И., Арутюнов Г.П., Жугрова Е.С., Иливанова Е.П., Жилиев Е.В., Лыткина К.А., Коршунов Н.И., Станислав М.Л., Успенский Ю.П., Андрианова И.А., Белоусова Л.Н., Мацеевская Г.К., Сайковский Р.С., Ардашев В.Н. Новые возможности терапии ревматоидного артрита: российский опыт применения цертолизумаба пэгол. *Научно-практическая ревматология.* 2011; 2: 104–110.
19. Каратеев Д.Е., Насонов Е.Л., Лучихина Е.Л., Мазуров В.И., Салихов И.Г., Шмидт Е.И., Шостак Н.А. Эффективность и безопасность лечения адалимумабом больных активным ревматоидным артритом с резистентностью к стандартной терапии: результаты Российского национального исследования. *Терапевтический архив.* 2012; 8: 22–28.
20. Насонов Е.Л., Каратеев Д.Е., Лукина Г.В. Фармакотерапия ревматоидного артрита в начале 21 века: российский и международный опыт. *Терапевтический архив.* 2013; 8: 20–28.
21. Ананьева Л.П., Соловьев С.К., Бекетова Т.В., Васильев В.И., Антелава О.А., Александрова Е.Н., Конева О.А., Цанян М.Э., Десинова О.Б., Логвиненко О.А., Волков А.В., Хелковская-Сергеева А.Н., Новиков А.А., Александркин А.А., Насонов Е.Л. Анти-В-клеточная терапия при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях: эффективность и переносимость у 229 больных. *Научно-практическая ревматология.* 2014; 52: 495–507.
22. Genovese M.C., McKay J.G., Nasonov E.L., Mysler E.F., da Silva N.A., Alecock E., Woodworth T., Gomez-Reino J.J. Interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab reduces disease activity in rheumatoid arthritis with inadequate response to disease modifying antirheumatic drugs. The tocilizumab in combination with traditional disease modifying antirheumatic drug therapy study. *Arthritis Rheum.* 2008; 58: 2968–2980.
23. Genovese M.C., Covarrubias A., Leon G., Mysler E., Keiserman M., Valente R., Nash P., Simon-Campos J.A., Porawska W., Box J., Legerton C., Nasonov E., Durez P., Aranda R., Pappu R., Delaet I., Teng J., Alten R. Subcutaneous abatacept versus intravenous abatacept. A phase IIIb non inferiority study in patients with inadequate response to methotrexate. *Arthritis Rheum.* 2011; 63: 2854–2864.
24. Genovese M.C., Pachero Tena C., Covarrubias A., Leon G., Mysler E., Keiserman M., Valente R., Nash P., Simon-Campos J.A., Box J., Legerton C.W., Nasonov E., Durez P., Aranda R., Pappu R., Delaet I., Teng J., Alten R. Subcutaneous abatacept for the treatment of rheumatoid arthritis: longterm Data from the ACQUIRE trial. *J. Rheumatol.* 2014; 41: 629–639.
25. Navarra S.V., Guzman R.M., Gallacher A.E., Hall S., Levy R.A., Jimenez R.E., Li K.M., Thomas M., Kim H.O., Lron M.G., Tanasescu C., Nasonov E.L., Lan J.L., Pineda L., Zhong Z.J., Freimuth W., Petri M.A. Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomized, placebo controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2011; 377: 721–731.
26. Smolen J.S., Aletaha D., Bijlma J.W.J., Breedveld F.C., Boumpas D., Burmester G., Combe B., Cutolo M., de Wit M., Dougados M., Emery P., Gibofsky A., Gomez-Reino J.J., Heijde D. For the T2T Expert Committee. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann. Rheum. Dis.* 2010; 69: 631–637.
27. Smolen J.S., Landewe R., Breedveld F.C., Buch M., Burmester G., Dougados M., Emery P., Gaujoux-Viala C., Gossec L., Nam J., Ramiro S., Winthrop K., de Wit M., Aletaha D., Betteridge N., Bijlma J.W., Boers M., Buttgerit F., Combe B., Cutolo M., Damjanov N., Hazes J.M., Kouloumas M., Kvien T.K., Mariette X., Pavelka K., van Riel P.L., Rubbert-Roth A., Scholte-Voshaar M.,

- Scott D.L., Sokka-Isler T., Wong J.B., van der Heijde D. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Ann. Rheum. Dis.* 2014; 73: 492–509.
28. Nasonov E.L., Karateev D.E. Does Russia need a treat-to-target initiative? Adopting a global strategy to improve outcome locally. *Rheumatology (Oxford)*. 2015; 54: 381–382.
  29. Насонов Е.Л., Каратеев Д.Е., Чичасова Н.В. Рекомендации EULAR по лечению ревматоидного артрита — 2013: общая характеристика и дискуссионные проблемы. *Научно-практическая ревматология*. 2013; 51: 609–622.
  30. Насонов Е.Л., Каратеев Д.Е., Чичасова Н.В. Рекомендации EULAR по лечению ревматоидного артрита — 2013: место метотрексата. *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52 (1): 8–26.
  31. Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л., Муравьев Ю.В., Насонов Е.Л., Смирнов А.В., Лучихина Е.Л., Александрова Е.Н., Лукина Г.В., Волков А.В., Новиков А.А., Новикова Д.С., Авдеева А.С., Демидова Н.В., Попкова Т.В., Олюнин Ю.А., Гринева Г.И., Лопарева Е.В. Первое Российское стратегическое исследование фармакотерапии ревматоидного артрита (РЕМАРКА). *Научно-практическая ревматология*. 2013; 51: 117–125.
  32. Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л., Демидова Н.В., Муравьев Ю.В., Насонов Е.Л., Канонирова М.А., Касумова К.А., Смирнов А.В., Лучихина Е.Л., Александрова Е.Н., Лукина Г.В., Волков А.В., Новиков А.А., Новикова Д.С., Авдеева А.С., Демидова Н.В., Попкова Т.В., Олюнин Ю.А., Гринева Г.И. Первое российское стратегическое исследование фармакотерапии ревматоидного артрита (РЕМАРКА): результаты лечения 130 больных в течение 12 месяцев. *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52: 607–614.
  33. Насонов Е.Л., Мазуров В.И., Каратеев Д.Е., Лукина Г.В., Жилев Е.В., Амирджанова В.Н., Муравьев Ю.В., Чичасова Н.В. Проект рекомендаций по лечению ревматоидного артрита Общероссийской общественной организации «Ассоциация ревматологов России 2014 (часть 1)». *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52: 477–494.
  34. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н. Современные технологии и перспективы лабораторной диагностики ревматических заболеваний. *Терапевтический архив*. 2010; 5: 5–9.
  35. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Современные стандарты лабораторной диагностики ревматических заболеваний и их применение в реальной клинической практике. *Научно-практическая ревматология*. 2013; 51: 368–376.
  36. Tozzoli R., Bonaguri C., Melegari A., Antico A., Bassetti D., Bizzaro N. Current state of diagnostic technologies in the autoimmunology laboratory. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; 51: 129–138.
  37. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Насонов Е.Л. Протеомные исследования в ревматологии. *Научно-практическая ревматология*. 2012; 50: 19–24.
  38. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Насонов Е.Л. Создание и применение диагностического индекса, основанного на многопараметрическом анализе биомаркеров для определения активности ревматоидного артрита. *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52 (1): 72–78.
  39. Satoh M., Tanaka S., Chan E.K.L. The uses and misuses of multiplex autoantibody assays in systemic autoimmune rheumatic diseases. *Frontiers Immunol.* 2015; 6: 1–4. Doi:10.3389/fimmu.2015.00181.
  40. Meroni P.L., Biggioggero M., Pierangeli S.S., Sheldon J., Zegers I., Borghi M.O. Standardization of autoantibody testing: a paradigm for serology in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2014; 10: 35–42.
  41. Bizzaro N., Tozzoli R., Shoenfeld Y. Are we at a stage to predict autoimmune rheumatic diseases? *Arthritis Rheum.* 2007; 56: 1736–1744.
  42. Agmon-Levin N., Damoiseaux J., Kallenberg C., Sack U., Witte T., Herold M., Bossuyt X., Musset L., Cervera R., Plaza-Lopez A., Dias C., Sousa M.J., Radice A., Eriksson C., Hultgren O., Viander M., Khamashta M., Regenass S., Andrade L.E., Wiik A., Tincani A., Rönnelid J., Bloch D.B., Fritzler M.J., Chan E.K., Garcia-De La Torre I., Konstantinov K.N., Lahita R., Wilson M., Vainio O., Fabien N., Sinico R.A., Meroni P., Shoenfeld Y. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann. Rheum. Dis.* 2014; 73: 17–23.
  43. Meroni P.L., Schur P.H. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann. Rheum. Dis.* 2010; 69: 1420–1422.
  44. Willitzki A., Hiemann R., Peters V., Guttek K., Goihl A., Hartig R., Conrad K., Bogdanos D.P., Reinhold D., Roggenbuck D. New platform technology for comprehensive serological diagnostics of autoimmune diseases. *Clin. Dev. Immunol.* 2012; 2012: 284740. Doi: 10.1155/2012/284740.
  45. Avdeeva A.S., Aleksandrova E.N., Novikov A.A., Smirnov A.V., Cherkasova M.V., Nasonov E.L. The relationship of antibodies to modified citrullinated vimentin and markers of bone and cartilage destruction in rheumatoid arthritis. *Int. J. Rheumatol.* 2014; ID464585.
  46. Shi J., van Veelen P.A., Machler M., Janssen G.M., Drijfhout J.W., Huizinga T.W., Toes R.E., Trouw L.A. Carbamylation and antibodies against carbamylated proteins in autoimmunity and other pathologies. *Autoimmune Rev.* 2014; 13: 225–230.
  47. Maksymowych W.P., van der Heijde D., Allaart C.F. 14–3–3η is a novel mediator associated with the pathogenesis of rheumatoid arthritis and joint damage. *Arthritis Res. & Ther.* 2014; 16: 99.
  48. Centola M., Cavet G., Shen Y., Ramanujan S., Knowlton N., Swan K.A., Turner M., Sutton C., Smith D.R., Haney D.J., Chernoff D., Hesterberg L.K., Carulli J.P., Taylor P.C., Shadick N.A., Weinblatt M.E., Curtis J.R. Development of a multi biomarker disease activity test for rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2013; 8: 60635.
  49. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Герасимов А.Н., Черкасова М.В., Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л., Насонов Е.Л. Многопараметрический анализ биомаркеров в лабораторной диагностике раннего ревматоидного артрита. *Научно-практическая ревматология*. 2013; 51: 111–116.
  50. Насонов Е.Л. Ревматоидный артрит: проблемы и значение персонализированной медицины. *Терапевтический архив*. 2012; 5: 5–9.
  51. Robinson W.H., Lindstrom T.M., Cheung R.K., Sokolove J. Mechanistic biomarkers for clinical decision making in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2013; 9: 267–276.
  52. Авдеева А.С., Александрова Е.Н., Насонов Е.Л. Клиническое значение матриксных металлопротеиназ при ревматоидном артрите. *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52: 79–84.
  53. Авдеева А.С., Новиков А.А., Александрова Е.Н., Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л., Насонов Е.Л. Динамика уровней цитокинов на фоне терапии метотрексатом и адалимумабом у пациентов с ранним ревматоидным артритом. (Исследование РЕМАРКА). *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52: 254–262.
  54. Van Schouwenburg R.A., Rispens T., Wolbink G.J. Immunogenicity of anti-TNF biologics therapy for rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2013; 9: 164–172.
  55. Супоницкая Е.В., Александрова Е.Н., Александркин А.П., Насонов Е.Л. Влияние терапии генно-инженерными биологическими препаратами на субпопуляции В-лимфоцитов. *Научно-практическая ревматология*. 2015; 53: 78–83.
  56. Супоницкая Е.В., Александрова Е.Н., Насонов Е.Л. Клиническое значение BAFF/BLyS и APRIL при системной красной волчанке. *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52: 545–5523.



#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

*Насонов Евгений Львович*, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой

**Адрес:** 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34 А, **тел:** +7 (499) 614-44-90, **e-mail:** sokrat@iramn.ru

*Александрова Елена Николаевна*, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой

**Адрес:** 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34 А, **тел:** +7 (499) 614-09-33, **e-mail:** iramnlab@rambler.ru

*Новиков Александр Александрович*, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой

**Адрес:** 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34 А, **тел:** +7 (499)-614-09-33, **e-mail:** iramnlab@rambler.ru

# Аутоиммунные заболевания нервной системы: состояние проблемы и перспективы

*В статье освещены достигнутые за последние 15 лет результаты в области аутоиммунных заболеваний нервной системы: улучшилось понимание медико-социальной значимости этих болезней, сформировалась концепция нозологических единиц, описаны новые и атипичные формы демиелинизирующих заболеваний центральной и периферической нервной системы, аутоиммунных болезней нервно-мышечного синапса. Идентифицированы новые антигены, разработаны и внедрены в практику диагностические панели аутоантител. Сформулированы клинические рекомендации по диагностике и ведению, апробированы и включены в стандарты новые лекарственные препараты. В крупнейшем неврологическом центре России — Научном центре неврологии (Москва) — разработана «вакцина» для иммунотерапии рассеянного склероза, исследуются биомаркеры болезней центральной и периферической нервной системы, внедряются современные технологии реабилитации. Приоритетными направлениями являются изучение патоморфоза синдрома Гийена–Барре, детализация звеньев патогенеза, совершенствование программы патогенетической терапии, позволившей снизить летальность с 30 до 3%, сократить в 2 раза сроки пребывания на искусственной вентиляции легких и в 2,5 раза — сроки восстановления самостоятельной ходьбы.*

**Ключевые слова:** *нейроиммунология, аутоиммунные заболевания нервной системы, рассеянный склероз, синдром Гийена–Барре.*

*(Для цитирования:* Пирадов М.А., Супонева Н.А. Аутоиммунные заболевания нервной системы: состояние проблемы и перспективы. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (2): 183–187. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1311)

Аутоиммунные заболевания занимают важное место в структуре заболеваний нервной системы [1–3]. Последние 15 лет ознаменовались не только выделением новых, ранее неизвестных болезней, но и дополнением их новыми формами. Сформировалось отчетливое понимание медико-социальной значимости этих болезней, поскольку большинство из них дебютирует в молодом и среднем возрасте; острые формы часто представляют собой угрозу жизни пациента или высокий риск тяжелых осложнений, а хронические формы требуют глубоких, энциклопеди-

ческих знаний от врача, подразумевают регулярный контроль состояния больного и нередко пожизненную дорогостоящую терапию. Необходимо отметить, что дефекты ведения, а также резистентные формы этих заболеваний способствуют стойкой инвалидизации трудоспособных граждан, ложась тяжким бременем на государство. Между тем большинство из них представляют собой курабельные состояния, позволяющие при адекватном и своевременном лечении на длительное время сохранять функциональный и социальный статус человека.

M.A. Piradov, N.A. Suponeva

Research Center of Neurology, Moscow, Russian Federation

## Autoimmune Diseases of the Nervous System: Problem Statement and Prospects

*This review highlights the achievements in the field of autoimmune diseases of the nervous system over the last 15 years. It became possible to deepen the understanding of medical and social significance of these diseases, form the concept of nosologic unit heterogeneity, describe new and atypical forms of demyelinating diseases of the central and peripheral nervous system, autoimmune diseases of the neuromuscular synapse. Also, it is important to mention, that the new antigens were identified, the diagnostic panel of autoantibodies was developed and put into practice. Furthermore, the clinical practice guidelines for the diagnosis and management of patients were developed, the new drugs were tested and included in these guidelines. The scientists of the biggest Russian neurological centre, Research Centre of Neurology (Moscow), developed a «vaccine» for immunotherapy of multiple sclerosis, studied pathomorphosis of Guillain–Barre syndrome, specified the components of its pathogenesis, improved the programs of pathogenetic therapy, which led to the decrease in mortality from 30 to 3%, helped to decrease the AVL period by 2 times, hasten the recovery of independent walking by 2.5 times. Nowadays different biomarkers of diseases of the central and peripheral nervous system are studied and modern technologies in neurorehabilitation are applied.*

**Key words:** *neuroimmunology, autoimmune diseases of the nervous system, multiple sclerosis, Guillain–Barre syndrome.*

*(For citation:* Piradov M.A., Suponeva N.A. Autoimmune Diseases of the Nervous System: Problem Statement and Prospects. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (2): 183–187. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1311)

Аутоиммунные заболевания нервной системы имеют целый ряд общих характеристик, позволяющих рассматривать их как патологический процесс с едиными механизмами и чертами развития. К ним относятся: генетическая предрасположенность, молодой возраст дебюта, более частая встречаемость у женщин, тенденция к рецидивированию и прогрессированию, и в то же время — склонность к спонтанным ремиссиям; нередкое сочетание нескольких аутоиммунных процессов у одного больного; терапевтическая эффективность иммуномодулирующей или иммуносупрессивной терапии.

В настоящее время спектр известных аутоиммунных заболеваний нервной системы включает в себя более 30 наименований. Самые известные из них — рассеянный склероз, синдром Гийена–Барре, миелит, острые и хронические полиневропатии, миастения гравис и полидерматомиозиты [4, 5]. Мишенью для аутоиммунной атаки может служить практически любая структура, входящая в состав центральной нервной системы и периферического нейромоторного аппарата. Некоторые довольно четко ассоциированы с инфекционным агентом (постполио-синдром, кампилобактер–ассоциированный или цитомегаловирус–ассоциированный синдром Гийена–Барре, хорея Сиденгама) и опухолями (паранеопластический синдром Ламберта–Итона, опосклонус-миоклонус и др.) [6, 7]. Однако триггеры многих из этих болезней до сих пор остаются неясными. В частности, это касается нейросаркоидоза, синдрома Толоса–Ханта, мультифокальной моторной невропатии с блоками проведения, хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии и других [8], что в значительной мере мотивирует специалистов к научным исследованиям в данной области.

Долгое время неврологи располагали весьма ограниченным спектром моделей аутоиммунных болезней нервной системы. Однако за последние несколько лет были сделаны заметные шаги в данном направлении, что видно на примере полиневропатий: к классическому экспериментальному аутоиммунному невриту у крыс и мышей (активная и пассивная модель) добавились и интенсивно изучаются Тх9, Р0–опосредованный неврит, трансгенные модели, модель с пассивным переносом антител [9]. Относительно недавно появилась и модель хронического полиневрита, открывшая широкие возможности для изучения патогенеза и эффективности лекарственных препаратов при затяжном течении болезни [10].

Успехи нейроиммунологии реализовались в идентификации новых, ранее не известных антигенов. Так, при миастении, традиционно ассоциированной с антителами к ацетилхолиновым рецепторам (АХР), относительно недавно были определены новые — MuSK (мышечно-специфичная тирозинкиназа) и LRP4, локализующиеся на постсинаптической мембране и участвующие в формировании АХР-комплекса [11]. Для большой группы острых и хронических полиневропатий удалось обнаружить широкий спектр ганглиозидов, каждый из которых имеет «излюбленную» локализацию и, соответственно, определяет клинический паттерн заболевания. В частности, установлено, что ганглиозиды GM1 локализируются в паранодальном миелине передних корешков. Таким образом, невропатии, ассоциированные с антителами к GM1, характеризуются изолированными двигательными нарушениями (моторная форма синдрома Гийена–Барре, мультифокальная моторная невропатия с блоками проведения) [12].

Все вышеперечисленное привело к пониманию того, что ранее считавшиеся едиными, эти болезни стали рассматриваться как группы болезней или синдромов. Углу-

бленное изучение рассеянного склероза, миастении, синдрома Гийена–Барре [13], хронических полиневропатий показало их гетерогенность. Так, при миастении стали выделять серопозитивную и серонегативную форму, а внутри последней — анти-MuSK-форму [14]. Также описана миастения новорожденных и конгенитальная миастения. В прошлом острая воспалительная демиелинизирующая полирадикулоневропатия — синоним синдрома Гийена–Барре — оказалась всего лишь одной из его 4 основных и 4 дополнительных форм. В рамках хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии сегодня рассматривают 7 типичных форм. Наконец, при самом частом аутоиммунном заболевании нервной системы — рассеянном склерозе — описано 8 форм, в т.ч. атипичные [15–17].

Верификация аутоантител и создание диагностических панелей для широкого использования в клинической практике — еще одно перспективное направление нейроиммунологии. В настоящее время уже существует возможность исследовать олигоклональный IgG в сыворотке и ликворе для диагностики рассеянного склероза, антитела к аквапорино-4 при оптикомиелите, определять спектр аутоантител к ганглиозидам при аутоиммунных полиневропатиях, с помощью электрофореза с иммунофиксацией выявлять патологические иммуноглобулины (парапротеины), антитела к глутаматдекарбоксилазе (GAD) при синдроме ригидного человека (stiff-man syndrome) [18–20]. Эти тесты прочно вошли в рутинную практику специалистов, работающих в области диагностики и дифференциальной диагностики аутоиммунных заболеваний нервной системы.

Результаты многочисленных клинических исследований с высоким уровнем доказательности позволили профессиональным сообществам неврологов сформулировать клинические рекомендации, которым следует подталкивающее большинство специалистов как за рубежом, так и в России. Усовершенствованы диагностические критерии рассеянного склероза и ассоциированных с ним состояний, ряда полиневропатий, таких как хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия (ХВДП) [21], мультифокальная моторная невропатия [22], парапротеинемические демиелинизирующие полиневропатии [23], а также миастении [24]. Однако существует не менее широкий спектр тех патологий, при которых это еще предстоит сделать. Основными проблемами являются, с одной стороны, редкость многих из перечисленных заболеваний, а с другой — их клиническое разнообразие (полиморфизм), затрудняющие подбор пациентов для включения в исследования и систематизацию данных.

В последние несколько лет наблюдается активное развитие в области разработки и внедрения новых методов лечения аутоиммунных заболеваний нервной системы. От терапии «из пушки по воробьям» (кортикостероиды, плазмаферез, внутривенная иммунотерапия, нередко цитостатики) намечена стойкая тенденция к внедрению таргетной терапии [24–26]. Это касается прежде всего фармакологических препаратов. Так, вслед за ревматологами, в неврологии стали использовать моноклональные антитела, фузионные белки. Самые большие надежды в настоящее время возлагают на ритуксимаб (анти-CD20), натализумаб и финголимоид. Их эффективность уже доказана при рассеянном склерозе, в т.ч. и работами сотрудников Научного центра неврологии [27, 28], что позволило включить эти препараты в стандарты по лечению, а спектр применения продолжает неуклонно расширяться. На этапе клинических исследований находится и одно из самых дорогих лекарств в мире — экулизумаб

(<https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02029378>), на эффективность которого возлагают большие надежды специалисты, занимающиеся лечением аксональных форм синдрома Гийена–Барре, характеризующихся затяжным течением и неблагоприятным прогнозом на восстановление.

В последние годы основные усилия коллектива Научного центра неврологии в области аутоиммунных заболеваний нервной системы сосредоточены на самом распространенном демиелинизирующем заболевании центральной нервной системы — рассеянном склерозе — и самом тяжелом заболевании периферической нервной системы — синдроме Гийена–Барре.

В результате проведенных исследований [29] изучен клинический полиморфизм рассеянного склероза (наличие атипичных форм — псевдотуморозной, Баллоподобной, изолированных оптических невритов и миелинов); усовершенствованы нейровизуализационные и биохимические методы диагностики острого рассеянного энцефаломиелимита, оптикомиелита и аквапорин–ассоциированных синдромов при системных воспалительных заболеваниях (системная красная волчанка, болезнь Бехчета); установлена роль T-регуляторных клеток ( $T_{reg}$ ) в развитии патологического процесса при рассеянном склерозе; активно изучается роль липидов в формировании иммунного ответа при рассеянном склерозе: взаимодействие с Toll-подобными рецепторами, формирование антител к различным липидам миелина; разработаны методы оценки биомаркеров нейродегенерации при рассеянном склерозе, в т.ч. нейровизуализационные (МРТ, МР-спектроскопия), биохимические (определение нейротрансмиттеров, нейрофиламентов — легких и тяжелых цепей,  $\beta$ -амилоида в биологических жидкостях), нейрофизиологические (вызванные потенциалы, оптическая когерентная томография, электрофизиологическое исследование сетчатки); изучаются механизмы пластичности мозга и реорганизации коры при двигательных нарушениях при рассеянном склерозе с использованием самых передовых технологий — функциональной МРТ и навигационной транскраниальной магнитной стимуляции (ТМС) [30].

Значимым достижением является разработанная аутологичная клеточная вакцина  $T_{reg}$  CD4+CD25Foxp3+ для иммунотерапии рассеянного склероза, не имеющая аналогов за рубежом. Работа проводилась совместно с РНИМУ им. Н.И. Пирогова (отдел клеточных технологий и регенеративной медицины) при финансовой поддержке фонда «Сколково». Иммунологические и клинические показатели эффективности применения вакцины Трег у первых 14 больных рассеянным склерозом (1,5 года наблюдения) показали сокращение первоначального числа обострений с 1–2 у всех пациентов до 1 у 3 пациентов, стабилизацию международного индекса инвалидизации EDSS с исходных 3,7 балла до 3,3 за тот же полуторагодовой период на фоне достоверного увеличения содержания Трег в их крови [31]. Методика получения вакцины Трег запатентована в России и США в 2014 г.

Еще одной приоритетной технологией, разработанной в Научном центре неврологии для коррекции проявлений этого заболевания, стала навигационная ТМС. Показано, что воздействие с помощью ТМС на первичную моторную зону коркового представительства ноги достоверно снижало спастичность у больных с вторично-прогредиентным течением рассеянного склероза [32]. В настоящее время уточняются режимы, характеристики стимуляции, а также выделяются группы пациентов, у которых данный вид терапии может оказаться наиболее эффек-

тивным в плане снижения спастичности и улучшения опорной функции ноги. Навигационная ТМС является одним из наиболее популярных и перспективных методов модуляции нейропластических процессов, позволяющих достоверно и целенаправленно воздействовать на процесс реабилитации и компенсации утраченных в результате повреждения центральной нервной системы функций.

Научный центр неврологии — один из крупнейших в мире центров, обладающий огромным опытом диагностики и ведения больных с синдромом Гийена–Барре, насчитывающим более 400 случаев, единственное учреждение, специализирующееся в данном направлении в России. Синдром Гийена–Барре — самая частая причина острых периферических параличей в мире: заболевание, требующее проведения полномасштабных реабилитационных мероприятий у каждого четвертого больного, включая многодневную искусственную вентиляцию легких. В его основе лежит аутоиммунная атака на миелин и, при особо тяжелых формах, на аксоны периферических нервов. За последние годы получены впервые данные о заболеваемости в России (1,8 человек на 100 тыс. в год), что позволяет осознанно подходить к планированию логистики пациента с установленным диагнозом (или подозрением на него) в пределах каждого из регионов [33, 34]. Нами разработан алгоритм дифференциальной диагностики острых вялых параличей, адаптированный для российской популяции. Доказано, что именно синдром Гийена–Барре в настоящее время является главной их причиной у взрослых (ранее — полиомиелит). Полученные данные открывают возможность практически врачам адекватно и слаженно действовать согласно разработанному плану с выбором оптимального набора диагностических тестов. В целом за последние годы путем совершенствования системы диагностики, контроля и оптимизации методов лечения, в Научном центре неврологии удалось снизить летальность при синдроме Гийена–Барре с 30 до 3%, сократить в 2 раза сроки пребывания на искусственной вентиляции легких и в 2,5 раза — сроки восстановления самостоятельной ходьбы.

Результатом фундаментальных исследований синдрома Гийена–Барре, выполняемых в Научном центре неврологии, явилось установление факта и описание патоморфоза этого заболевания, наблюдаемого в течение последних 10 лет, что сделано впервые в мировой литературе. В частности, показано увеличение аксональных форм синдрома Гийена–Барре в 4 раза, многие из которых требуют проведения искусственной вентиляции легких, причем ее продолжительность при аксональных формах в 5 раз больше, чем при демиелинизирующих. Кроме того, изменились триггеры заболевания: менее часто демиелинизирующим формам стали предшествовать острые респираторные заболевания, а диарея как триггер синдрома Гийена–Барре перестала быть редкостью. Уточнены звенья патогенеза: главенствующая роль *Campylobacter jejuni*, участие аутоантител к ганглиозидам GM1. Определены биомаркеры, ассоциированные с тяжелым течением заболевания и стойкими остаточными парезами: 2 разновидности антител — анти-GM1 и анти-GD1a, а также тяжелые цепи нейрофиламента, обнаруживаемые в сыворотке в первые 2 нед от начала заболевания. Анти-GM1 и анти-GD1a ассоциированы с тяжелым течением заболевания, проведением искусственной вентиляции легких и стойкими остаточными парезами; концентрация тяжелых цепей нейрофиламента в сыворотке пациентов >0,144 нг/мл свидетельствует о высоком риске дыхательных нарушений, >0,094 нг/мл — о высокой веро-



ятности развития дисфагии с необходимостью зондового кормления [35].

Совместно с институтами биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН и Институтом физико-химической медицины ФМБА России нами проводятся исследования, направленные на выявление молекулярных основ патогенеза синдрома Гийена–Барре. После пилотных проектов, посвященных профилированию сыворотки пациентов с синдромом Гийена–Барре, ХВДП и сравнения их с контрольной группой [36], дальнейшая работа была сконцентрирована на изучении ликвора. Получены данные о протеомном и пептидомном составе спинномозговой жидкости пациентов с демиелинизирующей формой синдрома Гийена–Барре и пациентов, не имеющих неврологических заболеваний. Показано, что количество белков, продукты деградации которых были выявлены в исследованных образцах спинномозговой жидкости пациентов с синдромом Гийена–Барре, в 4 раза превышает количество идентифицированных пептидогенных белков у контрольной группы пациентов. Значительную их часть составляют фрагменты иммуноглобулинов, что может говорить о более напряженном иммунном статусе спинномозговой жидкости пациентов с синдромом Гийена–Барре. Кроме того, среди идентифицированных пептидов, специфичных для ликвора пациентов с синдрома Гийена–Барре, обнаружены фрагменты белков клеточной адгезии, участвующих в организации миелиновой оболочки периферических нервов в их паранодальных областях, что может указывать на возможный механизм демиелинизации нервов путем протеолитической деградации этих белков. Проведен анализ периферической крови пациентов с

синдромом Гийена–Барре и практически здоровых доноров на наличие антител к различным вирусам герпеса. У значительной части пациентов с синдромом Гийена–Барре в отличие от контрольной группы пациентов, в крови обнаруживаются антитела к нескольким различным герпесвирусам одновременно. Получен транскрипт лимфоцитов периферической крови пациентов с синдромом Гийена–Барре: в настоящий момент проводится анализ этих данных. В перспективе планируется не только уточнить отдельные звенья патогенеза, но также усовершенствовать диагностические тесты с возможностью внедрения их в клиническую практику.

В заключении стоит отметить, что нейроиммунология во всех своих фундаментальных и практических аспектах является сравнительно молодым, чрезвычайно актуальным и активно развивающимся направлением медицинской науки. Особую ценность, с нашей точки зрения, представляет углубленное изучение синдрома Гийена–Барре как уникального тяжелого, но тем не менее самоограничивающегося заболевания с доказанными аутоиммунными механизмами развития, при полном раскрытии патогенеза, которого, возможно, появится ключ к разгадке и лечению аутоиммунных заболеваний человека — одной из сложнейших проблем современной медицины.

#### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аутоиммунные заболевания в неврологии. Клиническое руководство. В 2 томах. Под ред. И.А. Завалишина, М.А. Пирадова, А.Н. Бойко, С.С. Никитина, Н.Н. Спирина, А.В. Переседовой. М.: *Здоровье человека*. 2014. 400 с.
2. Atlas country resources for neurological disorders. Geneva: *World Health Organization*. 2004. 60 p.
3. The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries and risk factors in 1990 and projected to 2020. In: *Global Burden of Disease and Injury Series*, Vol. 1. C.J.L. Murray, A.D. Lopez (eds.). Cambridge, MA, *Harvard School of Public Health on behalf of the World Health Organization and The World Bank*. 1996. 44 p.
4. Переседова А.В., Завалишин И.А. Современное состояние проблемы рассеянного склероза. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2009; 1: 43–47.
5. Пирадов М.А., Супонева Н.А. Синдром Гийена-Барре: диагностика и лечение. Рук-во для врачей. М.: *МЕДпресс-информ*. 2011. 200 с.
6. Williams K.A., Swedo S.E. Post-infectious autoimmune disorders: Sydenham's chorea, PANDAS and beyond. *Brain Res*. 2014; pii: S0006–8993(14)01344–4. Doi: 10.1016/j.brainres.2014.09.071.
7. Berer K., Krishnamoorthy G. Microbial view of central nervous system autoimmunity. *FEBS Lett*. 2014; 588 (22): 4207–4213. Doi: 10.1016/j.febslet.2014.04.007.
8. Segal B.M. Neurosarcooidosis: diagnostic approaches and therapeutic strategies. *Curr. Opin. Neurol*. 2013; 26 (3): 307–313. Doi: 10.1097/WCO.0b013e3283608459.
9. Soliven B. Animal Models of Autoimmune Neuropathy. *Oxford J. Sci. & Math. ILLARJ*. 2013; 54 (3): 282–290.
10. Jung S., Gaupp S., Korn T., Kollner G., Hartung H.P., Toyka K.V. Biphasic form of experimental autoimmune neuritis in dark Agouti rats and its oral therapy by antigen-specific tolerization. *J. Neurosci. Res*. 2004; 75: 524–535.
11. Sanders D.B., Guptill J.T. Myasthenia gravis and Lambert-Eaton myasthenic syndrome. *Continuum (Minneapolis)*. 2014; 20 (5 Peripheral Nervous System Disorders): 1413–1425. Doi: 10.1212/01.CON.0000455873.30438.9b.
12. Skaper S.D., Leon A., Toffano G. Mol Ganglioside function in the development and repair of the nervous system. From basic science to clinical application. *Neurobiol*. 1989; 3 (3): 173–199.
13. van den Berg B., Walgaard C., Drenthen J., Fokke C., Jacobs B.C., van Doorn P.A. Guillain-Barré syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. *Nat. Rev. Neurol*. 2014; 10 (8): 469–482. Doi: 10.1038/nrneurol.2014.121.
14. Sieb J.P. Myasthenia gravis: an update for the clinician. *Clin. Exp. Immunol*. 2014; 175 (3): 408–418. Doi: 10.1111/cei.12217.
15. Iwanowski P., Losy J. Immunological differences between classical phenotypes of multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci*. 2015; 349 (1–2): 10–14. Doi: 10.1016/j.jns.2014.12.035.
16. Alvermann S., Hennig C., Stüve O., Wiendl H., Stangel M. Immunophenotyping of cerebrospinal fluid cells in multiple sclerosis: in search of biomarkers. *JAMA Neurol*. 2014; 71 (7): 905–912. Doi: 10.1001/jamaneurol.2014.395.
17. Mathey E.K., Park S.B., Hughes R.A., Pollard J.D., Armati P.J., Barnett M.H., Taylor B.V., Dyck P.J., Kiernan M.C., Lin C.S. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: from pathology to phenotype. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2015; pii: jnnp-2014–309697. Doi: 10.1136/jnnp-2014–309697.

18. Alexopoulos H., Dalakas M.C. Immunology of stiff person syndrome and other GAD-associated neurological disorders. *Exp. Rev. Clin. Immunol.* 2013; 9 (11): 1043–1053. Doi: 10.1586/1744666X.2013.845527.
19. Karussis D. The diagnosis of multiple sclerosis and the various related demyelinating syndromes: a critical review. *J. Autoimmun.* 2014; 48–49: 134–142. Doi: 10.1016/j.jaut.2014.01.022.
20. Simmons S.B., Pierson E.R., Lee S.Y., Goverman J.M. Modeling the heterogeneity of multiple sclerosis in animals. *Trends Immunol.* 2013; 34 (8): 410–422. Doi: 10.1016/j.it.2013.04.006.
21. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society — First Revision. *J. Peripher. Nerv. Syst.* 2010; 15: 1–9.
22. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of multifocal motor neuropathy. Report of a Joint Task Force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society — first revision. *J. Peripher. Nerv. Syst.* 2010; 15: 295–301.
23. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of paraproteinemic demyelinating neuropathies. Report of a Joint Task Force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society — first revision. *J. Peripher. Nerv. Syst.* 2010; 15 (3): 185–195. Doi: 10.1111/j.1529-8027.2010.00278.x.
24. Skeie G. O., Apostolski S., Evoli A., Gilhus N. E., Illa I., Harms L., Hilton-Jones D., Melms A., Verschuuren J., Horge H.W. Guidelines for treatment of autoimmune neuromuscular transmission disorders. *Eur. J. Neurol.* 2010; 17 (7): 893–902. Doi:10.1111/j.1468-1331.2010.03019.x.
25. Montalban X., Tintoré M. Multiple sclerosis in 2013: novel triggers, treatment targets and brain atrophy measures. *Nat. Rev. Neurol.* 2014; 10 (2): 72–73. Doi: 10.1038/nrneurol.2013.274.
26. Переседова А.В., Завалишин И.А. Современное состояние проблемы РС. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2009; 3 (1): 43–47.
27. Елисеева Д.А., Переседова А.В., Аскарлова Л.Ш., Адарчерва Л.С., Захарова М.Н., Стойда Н.И., Васильев А.В., Трифонова О.В., Завалишин И.А. Российский опыт применения финголимода в терапии ремиттирующего рассеянного склероза. *Эффективная фармакология.* 2014; 58 (6): 24–29.
28. Воробьева А.А., Симанив Т.О., Захарова М.Н., Завалишин И.А., Переседова А.В. Опыт применения натализумаба (Тизабри) в Научном центре неврологии. *Эффективная фармакология.* 2014; 58 (6): 4–11.
29. Елисеева Д.Д., Завалишин И.А., Быковская С.Н., Федорова Т.Н., Карандашов Е.Н., Трунова О.А. Регуляторные Т-клетки CD4+CD25+FOXP3+ у больных ремиттирующим рассеянным склерозом. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2011; 5 (2): 9–13.
30. Червяков А.В., Пойдашева А.Г., Коржова Ю.Е., Супонева Н.А., Черникова Л.А., Пирадов М.А. Современные терапевтические возможности ритмической транскраниальной магнитной стимуляции в лечении заболеваний нервной системы. *Русский медицинский журнал.* 2014; 22 (22): 1567–1572.
31. Завалишин И.А., Переседова А.В., Стойда Н.И., Гурьянова О.Е., Арзуманян Н.Ш., Алексеева Н.С., Елисеева Д.Д., Гулевская Т.С., Брюхов В.В. Диагностика и лечение рассеянного склероза. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2011; 111 (6): 89–96.
32. Коржова Ю.Е., Червяков А.В., Пойдашева А.Г., Переседова А.В., Черникова Л.А., Супонева Н.А., Пирадов М.А. Транскраниальная магнитная стимуляция в лечении спастичности. *Вестник восстановительной медицины.* 2014; 1: 80–87.
33. Супонева Н.А., Пирадов М.А., Гнедовская Е.В. Синдром Гийена–Барре в городах Российской Федерации: эпидемиология, диагностические и терапевтические возможности региональных клиник. *Здравоохранение Российской Федерации.* 2013; 1: 19–25.
34. Супонева Н.А., Пирадов М.А., Гнедовская Е.В., Буланова В.А., Баранова Н.С., Спиринов Н.Н. Синдром Гийена–Барре в Ярославском регионе: анализ возможностей оказания диагностической и лечебной помощи пациентам. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2013; 4: 45–49.
35. Супонева Н.А., Пирадов М.А., Никитин С.С., Тимченко О.Л., Грачева Л.А., Быкова Л.П., Федькина Ю.А., Костырева М.В., Шабалина А.А., Гришина Д.А. Патогенетическая и прогностическая роль аутоантител к ганглиозидам периферических нервов при синдроме Гийена–Барре. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2013; 1: 4–11.
36. Зиганшин Р.Х., Арапиди Г.П., Азаркин И.В., Балмасова И.П., Тимченко О.Л., Федькина Ю.А., Морозова Е.А., Пирадов М.А., Супонева Н.А., Юшук Н.Д., Говорун В.М. Протеомные технологии для выявления в сыворотке крови потенциальных биомаркеров аутоиммунных демиелинизирующих полиневропатий. *Биоорганическая химия.* 2011; 37 (1): 36–44.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Пирадов Михаил Александрович**, доктор медицинских наук, профессор, директор Научного центра неврологии, член-корреспондент РАН

Адрес: 125367, Москва, Волоколамское ш., д. 80, тел.: +7 (495) 290-20-03, e-mail: dir@neurology.ru

**Супонева Наталья Александровна**, доктор медицинских наук, руководитель отделения нейрореабилитации и физиотерапии Научного центра неврологии

Адрес: 125367, Москва, Волоколамское ш., д. 80, тел.: +7 (495) 490-25-02, e-mail: reneurology@neurology.ru

Л.Н. Маслов<sup>1,2</sup>, Н.В. Нарыжная<sup>1,2</sup>, Ю.К. Подоксенов<sup>1</sup>, А.С. Горбунов<sup>1</sup>, И. Жанг<sup>3</sup>, Ж.-М. Пей<sup>4</sup>

<sup>1</sup> НИИ кардиологии, Томск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Российская Федерация

<sup>3</sup> Хебейский медицинский университет, Шиджиажуанг, Китай

<sup>4</sup> Четвертый Военно-медицинский университет, Сиань, провинция Шаньси, Китай

# Роль брадикинина в механизме ишемического прекондиционирования сердца. Перспективы применения брадикинина в кардиохирургической практике

Содержание брадикинина в миокарде увеличивается в ответ на кратковременную ишемию–реперфузию, что является одним из доказательств его триггерной роли в ишемическом preconditionировании (ИП). Фармакологически индуцированное увеличение в миокарде уровня эндогенного брадикинина и каллидин-подобного пептида повышает устойчивость сердца к действию ишемии–реперфузии. Эксперименты на генетически модифицированных мышах свидетельствуют о том, что кинины участвуют в preconditionировании, но они не являются единственными эндогенными триггерами ИП. Блокада В2-рецепторов устраняет антиаритмический, инфаркт-лимитирующий эффекты preconditionирования, элиминирует ИП-индуцированную устойчивость сердца к окислительному стрессу. Экзогенный брадикинин имитирует инотропный, антиапоптозный и кардиопротекторный эффект ИП, но не имитирует антиаритмический эффект preconditionирования. Интракоронарная или внутривенная инфузия брадикинина усиливает толерантность сердца человека к ишемии–реперфузии. Реализация кардиопротекторного эффекта ИП осуществляется за счет активации нескольких сигнальных путей, в которых задействованы В2-рецептор, ген-кальцитонинный пептид, NO-синтаза, гуанилатциклаза, цГМФ, протеинкиназа G, митохондриальные КАТФ-каналы, активные формы кислорода, киназы C, ERK и Akt. Для повышения устойчивости сердца человека к ишемии–реперфузии необходима разработка агонистов В2-рецепторов, лишенных гипотензивных и провоспалительных свойств.

**Ключевые слова:** сердце, ишемическое preconditionирование, брадикинин.

(Для цитирования: Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В., Подоксенов Ю.К., Горбунов А.С., Жанг И., Пей Ж.-М. Роль брадикинина в механизме ишемического preconditionирования сердца. Перспективы применения брадикинина в кардиохирургической практике. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 188–195. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1312)

188

L.N. Maslov<sup>1,2</sup>, N.V. Naryzhnaia<sup>1,2</sup>, Yu.K. Podoksenov<sup>1</sup>, A.S. Gorbunov<sup>1,2</sup>, Y. Zhang<sup>3</sup>, J.-M. Pei<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Research Institute for Cardiology, Tomsk, Russian Federation

<sup>2</sup> National Research Tomsk Polytechnic University, Russian Federation

<sup>3</sup> Hebei Medical University, Shijiazhuang, China

<sup>4</sup> Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi Province, China

## Role of Bradikynin in the Mechanism of Ischemic Preconditioning of the Heart. Prospects of Bradykinin Application in Cardiosurgical Praxis

Bradykinin level is increased in myocardium in response to short-term ischemia/reperfusion that is one of the evidences of its trigger role in ischemic preconditioning (IP). Pharmacological induced increase of endogenous bradykinin and kallidin-like peptide levels in myocardium enhances cardiac tolerance to impact of ischemia / reperfusion. Experiments with genetically modified mice indicate that kinins are involved in preconditioning but they are not the only trigger of IP. The B2-receptor blocking abolishes antiarrhythmic, infarct reducing effects of preconditioning, eliminates IP-induced cardiac tolerance to oxidative stress. Exogenous bradykinin mimics inotropic and cardioprotective effects of IP but does not mimic antiarrhythmic effect of preconditioning. The intracoronary or intravenous bradykinin infusion enhances human heart resistance to ischemia/reperfusion. Implementation of the cardioprotective effect of IP is provided by the activation of multiple signaling pathways that involve: B2-receptor, calcitonin gene-related peptide, NO-synthase, guanylyl cyclase, cGMP, protein kinase G, mitochondrial KATP channels, reactive oxygen species, kinases C, ERK and Akt. To increase of the human heart tolerance to ischemia/reperfusion is necessary to develop B2-receptor agonists devoid hypotensive and pro-inflammatory properties.

**Key words:** heart, ischemic preconditioning, bradykinin.

(For citation: Maslov L.N., Naryzhnaia N.V., Podoksenov Yu.K., Gorbunov A.S., Zhang Y., Pei J.-M. Role of Bradikynin in the Mechanism of Ischemic Preconditioning of the Heart. Prospects of Bradykinin Application in Cardiosurgical Praxis. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 188–195. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1312)

## Введение

Адаптивный феномен ишемического прекодиционирования (ИП, ischemic preconditioning) был открыт в 1986 г. С.Е. Murry и соавт. [1]. Суть феномена сводится к тому, что после нескольких сеансов кратковременной ишемии и реперфузии миокард становится устойчивым к действию длительной ишемии и реперфузии, т.е. формируется срочная адаптация сердца к длительной гипоксии и реоксигенации [1]. Хотя с момента открытия феномена прошло уже почти 30 лет, интерес к нему не ослабевает, потому что изучение его молекулярных механизмов в перспективе может помочь в создании принципиально новых лекарственных препаратов, способных предупреждать ишемические и реперфузионные повреждения сердца, с которыми нередко сталкиваются клиницисты в своей практике. Речь, прежде всего, идет о биологически активных веществах, которые являются триггерами ИП.

Для подобных триггеров характерно увеличение их содержания в ткани миокарда в ответ на кратковременную ишемию и реперфузию. Блокада рецепторов этих веществ или ингибирование их синтеза предотвращают адаптацию миокарда к длительной ишемии—реперфузии после ИП. Фармакологические агенты, сходные по молекулярной структуре с триггерами ИП, повышают толерантность сердца к действию ишемии—реперфузии.

Брадикинин является пептидом, состоящим из 9 аминокислотных остатков (Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg) [2]. Близкий к нему пептид каллидин состоит из 10 аминокислотных остатков (Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg) [3]. Брадикинин и каллидин образуются во многих органах и тканях, включая сердце и артерии [3, 4]. Синтез брадикинина осуществляет фермент калликреин из высокомолекулярных предшественников, называемых HMW-кининогенами [2, 3], а каллидин образуется из LMW-кининогенов под действием калликреина [3]. Оба пептида обладают высоким сродством к конститутивным В2-рецепторам брадикинина [3], которые присутствуют во многих клетках и, в частности, на сарколемме кардиомиоцитов [4]. Фермент кининаза I отщепляет от брадикинина и каллидина аргинин, образовавшиеся Des-Arg9-каллидин и Des-Arg9-брадикинин активируют индуцибельный В1-рецептор, синтез которого индуцируют многие факторы, включая гипоксию [3, 4]. Поскольку статья посвящена кардиоваскулярным эффектам брадикинина, в дальнейшем речь пойдет, главным образом, об этом пептиде. Гидролиз брадикинина и каллидина катализирует ряд ферментов, включая ангиотензинконвертазу (ангиотензинпревращающий фермент), поэтому ингибиторы указанного фермента не только предотвращают синтез ангиотензина II, но и увеличивают уровень брадикинина в тканях [2]. Брадикинин является мощным вазодилататором, осуществляющим свое сосудорасширяющее действие через усиление синтеза простагландина, NO, эндотелий зависящего гиперполяризующего фактора [4]. Кинины ингибируют агрегацию тромбоцитов и активируют тканевый пламиноген [4]. Экзогенный брадикинин способен вызывать типичную воспалительную реакцию, а эндогенный брадикинин участвует в реализации воспалительного ответа [5]. Рецепторы брадикинина являются Gq- и Gi-сопряженными рецепторами, поэтому их активация приводит к реализации следующей цепочки сигнальных событий [2]: активация фосфолипазы C → увеличение содержания диацилглицеролов в клетке → активация протеинкиназы C (ПКС). Известно, что ПКС является ключевым ферментом ИП, и ее активация обеспечивает повышение толерантности сердца к действию

ишемии—реперфузии [6], поэтому существуют основания предполагать, что брадикинин может быть триггером ИП.

## Изменение уровня эндогенного брадикинина при кратковременной ишемии—реперфузии

В 1997 г. J.R. Parrat и соавт. [7] опубликовали результаты своих наблюдений за пациентами с коронарной ангиопластикой. Суть этой процедуры сводится к раздуванию (ишемия) интракоронарного баллона в области стеноза с последующей дефляцией (реперфузия) баллона. У 4 из 5 пациентов после ангиопластики было обнаружено повышение концентрации брадикинина в крови из коронарного синуса [7]. В 1998 г. в экспериментах на свиньях установили, что уровень интерстициального брадикинина (определяли методом микродиализа) увеличивается в 2 раза после двухминутной ишемии и десятиминутной реперфузии [8]. Полученные данные свидетельствуют о том, что брадикинин отвечает одному из критериев, характерному для триггеров ИП, а именно: его содержание в миокарде увеличивается в ответ на кратковременную ишемию—реперфузию.

## Фармакологически индуцированное увеличение в миокарде содержания эндогенного брадикинина, каллидин подобного пептида и устойчивость сердца к действию ишемии—реперфузии

В 1993 г. в ходе экспериментов на кроликах было обнаружено, что ингибитор ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) рамиприлат оказывает инфаркт-лимитирующий эффект [9]. Селективный антагонист В2-рецепторов НОЕ 140 устранял кардиопротекторный эффект рамиприлата. В экспериментах на кроликах японские физиологи показали, что ингибитор АПФ каптоприл оказывает кардиопротекторный эффект при коронароокклюзии и реперфузии [10]. Это эффект не проявлялся на фоне селективной блокады В2-рецепторов. Перечисленные факты говорят о том, что инфаркт лимитирующий эффект рамиприлата и каптоприла является следствием увеличения содержания эндогенного брадикинина или каллидина подобного пептида и активации В2-рецепторов, с которым ингибиторы АПФ не взаимодействуют.

Как известно, одним из ферментов, расщепляющих брадикинин, является нейтральная эндопептидаза [2]. В 2002 г. А. Nakano и соавт. [11] установили, что ингибитор названного фермента тиорфан оказывает инфаркт лимитирующий эффект, который не фиксируется после блокады В2-рецепторов. Этот факт говорит об участии эндогенного брадикинина в повышении толерантности сердца к действию ишемии—реперфузии после применения тиорфана.

Как известно, брадикинин не является единственным агонистом В2-рецепторов. У человека с подобными рецепторами может взаимодействовать каллидин, а у грызунов — каллидин подобный пептид [2]. В экспериментах на изолированном перфузируемом сердце крысы показано, что предварительная перфузия сердца раствором, содержащим каптоприл, существенно повышает устойчивость миокарда к патогенному действию глобальной ишемии—реперфузии [12]. Этот эффект не проявлялся в условиях блокады В2-рецепторов. Применение каптоприла не влияло на уровень брадикинина в перфузате, оттекающем от сердца, но увеличивало в 6 раз выброс из миокарда каллидин подобного пептида [12]. Следовательно



но, у крыс в кардиопротекторном эффекте ингибиторов АПФ ключевую роль может играть каллидин подобный пептид, а не брадикинин.

### Эксперименты на генетически модифицированных мышах

В 1997 г. Х.Р. Yang и соавт. [13] сообщили о результатах своих опытов на мышах с делецией (knockout) гена В2-рецептора (В2-КО) и опытах на крысах линии Brown Norway Katholiek, у которых нарушен синтез кининогена, предшественника брадикинина. У В2-КО-мышей 1 или 3 цикла кратковременной ишемии—реперфузии не влияли на толерантность сердца к длительной коронароокклюзии и реперфузии. Прекодиционирование не изменяло размер инфаркта у крыс линии Brown Norway Katholiek [13]. В 2005 г. V. Griol-Charhbili и соавт. [14] опубликовали результаты своих экспериментов на мышах с делецией гена тканевого калликрина (ТК-/-) или особях, нокаутированных по рецептору В2 (В2-/-). Инфаркт лимитирующий эффект ИП оценивали по соотношению «зона инфаркта» / «область риска» (ЗИ / ОР), где область риска — участок миокарда, подвергшийся воздействию ишемии—реперфузии. У обычных мышей ИП обеспечивало уменьшение индекса ЗИ / ОР на 65%, а у ТК-/- — на 40%. Эти данные, с одной стороны, говорят о том, что кинины участвуют в прекодиционировании, с другой — свидетельствуют, что кинины не являются единственными эндогенными триггерами ИП. Ингибитор АПФ рамиприлат у обычных мышей уменьшал соотношение ЗИ / ОР на 29%, а у мышей ТК-/- не оказывал никакого эффекта на этот показатель. Предварительное введение антагониста В2-рецепторов НОЕ 140 полностью устраняло инфаркт лимитирующий эффект ИП, а применение антагониста В1-рецепторов SSR240612 не влияло на кардиопротекторный эффект прекодиционирования у обычных мышей [14]. Следовательно, в кардиопротекторном эффекте ИП у немодифицированных мышей ключевую роль играют В2-рецепторы. Однако у мышей В2-/- сохраняется инфаркт лимитирующий эффект ИП и рамиприлата. Эти данные противоречат результатам исследования, выполненного Х.Р. Yang и соавт. [13]. Причина противоречия остается неясной. Предварительное введение мышам линии В2-/- препарата SSR240612 устраняло кардиопротекторный эффект ИП и рамиприлата. Авторы установили, что у мышей В2-/- усилена экспрессия В1-рецепторов [14], чем, видимо, объясняется участие этих рецепторов в ИП.

### Роль брадикининовых рецепторов в ишемическом прекодиционировании

Венгерские физиологи в экспериментах на собаках установили, что антагонист В2-рецепторов НОЕ 140 устраняет антиаритмический эффект ИП при 25-минутной ишемии [15]. Однако другие исследователи в опытах на крысах продемонстрировали, что В2-рецепторы не участвуют в антиаритмическом эффекте ИП [16]. Физиологи из Швейцарии в опытах на изолированном сердце крысы моделировали ишемию низкого протока (low-flow ischemia) и реперфузию [17]. Они установили, что ИП повышает устойчивость сердца к аритмогенному действию ишемии—реперфузии. Антиаритмический эффект ИП не выявлялся при блокаде В2-рецепторов. Экзогенный брадикинин имитировал антиаритмический эффект преко-

диционирования [17]. Причина подобного противоречия остается неясной.

В 1994 г. американские физиологи в экспериментах на крысах показали, что ИП обеспечивает уменьшение соотношения ЗИ/ОР в 3 раза [18]. Предварительное введение антагониста В2-рецепторов НОЕ 140 полностью устраняло инфаркт лимитирующий эффект ИП. В опытах на кроликах с 30-минутной коронароокклюзией и 3-часовой реперфузией М. Goto и соавт. [19] показали, что прекодиционирование (5 мин ишемии и 10 мин реперфузии) вызывает уменьшение индекса ЗИ/ОР в 3,5 раза. Предварительное введение антагониста В2-рецепторов НОЕ 140 полностью устраняло инфаркт лимитирующий эффект прекодиционирования. Однако, если НОЕ 140 вводили непосредственно перед 30-минутной ишемией, антагонист В2-рецепторов не влиял на кардиопротекторный эффект ИП. Следовательно, для формирования повышенной толерантности сердца к действию длительной ишемии—реперфузии достаточно стимуляции В2-рецепторов в течение нескольких минут. Если 30-минутной коронароокклюзии предшествовали 4 цикла ишемии (5 мин) и реперфузии (10 мин), то предварительная инъекция НОЕ 140 не устраняла инфаркт лимитирующий эффект ИП [19]. По-видимому, при использовании нескольких сеансов прекодиционирования наряду с В2-рецепторами активируются и другие рецепторы (опиоидные, аденозиновые), обеспечивающие толерантность сердца к действию ишемии—реперфузии [6]. Антагонист В2-рецепторов НОЕ 140 устранял ИП-индуцированную толерантность сердца к действию коронароокклюзии в экспериментах на денервированном сердце *in vivo* и в опытах на изолированном перфузируемом сердце кролика [19]. Эти данные говорят о том, что в прекодиционировании ключевую роль играют кардиальные В2-рецепторы.

В 1998 г. немецкие физиологи попытались выяснить рецепторный механизм ИП у свиней с 90-минутной коронароокклюзией и реперфузией (2 ч) [8]. Прекодиционирование воспроизводили с помощью кратковременной ишемии (2, 3, 10 мин) и реперфузии (15 мин). В группе контроля индекс ЗИ/ОР составлял 16%, ИП с помощью 2-минутной ишемии и 15-минутной реперфузии не влияло на ЗИ/ОР, ИП посредством 3-минутной ишемии и 15-минутной реперфузии снижало этот показатель до 9%, а после 10-минутной ишемии и 15-минутной реперфузии соотношение ЗИ/ОР было равно 1,9% [8]. Предварительная инфузия НОЕ 140 устраняла инфаркт-лимитирующий эффект 3-минутной ишемии. Блокада В2-рецепторов с помощью НОЕ 140 не влияла на кардиопротекторный эффект 10-минутной ишемии. Наши данные перекликаются с результатами исследований М. Goto и соавт. [19], которые обнаружили, что блокада В2-рецепторов перед 1-м циклом прекодиционирования устраняет инфаркт лимитирующий эффект ИП, но оказывается неэффективной при использовании 4 циклов прекодиционирования. Вероятно, при «жестком» прекодиционировании достигается максимальная активация всех рецепторов, задействованных в формировании адаптивного феномена прекодиционирования, поэтому блокада брадикининовых рецепторов не устраняет кардиопротекторный эффект ИП. В то же время, при умеренном прекодиционировании наблюдается только частичная активация рецепторов, обеспечивающих толерантность сердца к ишемии—реперфузии, поэтому достаточно заблокировать В2-рецепторы, чтобы протекторный эффект ИП исчез.

Китайские физиологи установили, что ИП повышает толерантность сердца не только к ишемии—реперфузии,

но и увеличивает устойчивость к окислительному стрессу [20]. Эксперименты они проводили на изолированном перфузируемом сердце морской свинки. Окислительный стресс моделировали с помощью перфузии сердца, раствором, содержащим свободный радикал 1,1-дифенил-2-пикрил-гидразил, который вызывал уменьшение силы сокращений, снижал скорость сокращения и расслабления сердца, индуцировал брадикардию, увеличивал уровень малонового диальдегида в миокарде. ИП в значительной степени предупреждало эти негативные проявления окислительного стресса [20]. Блокада В2-рецепторов устраняла «антиоксидантный» эффект ИП. Возможно, что ИП-индуцированное повышение толерантности к окислительному стрессу за счет активации В2-рецепторов вносит определенный вклад в формирование устойчивости сердца к действию длительной ишемии—реперфузии.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют, о том, что В2-рецепторы участвуют в формировании инфарктлимитирующего и антиаритмического эффекта ИП. Однако их участие в ИП удастся установить при использовании только 1 или 2 сеансов ишемии (3–5 мин) и реперфузии. При более жестком прекондиционировании (4 сеанса ишемии по 5 мин и реперфузии по 5 мин, или 10-минутная ишемия и реперфузия) выявить участие брадикининовых рецепторов в ИП не удастся, видимо, потому, что при жестком прекондиционировании задействованы другие рецепторы, обеспечивающие толерантность сердца к ишемии—реперфузии. Ишемическое прекондиционирование за счет активации В2-рецепторов обеспечивает повышение толерантности сердца к окислительному стрессу.

### **Экзогенные агонисты брадикининовых рецепторов имитируют феномен ишемического прекондиционирования**

В 1993 г. в опытах на собаках было показано, что с помощью интракоронарной инфузии брадикинина (25 нг/кг в мин) можно добиться повышения устойчивости сердца к аритмогенному действию коронароокклюзии [21]. Другой группе исследователей в опытах на крысах, которым брадикинин вводили в левый желудочек, не удалось подтвердить антиаритмический эффект этого пептида [22]. Изолированное перфузируемое сердце крыс подвергали воздействию ишемии низкого протока (low-flow ischemia) [23]. Согласно данным S.V. Dgiamov и соавт. [23], предварительная перфузия сердца раствором, содержащим брадикинин, не влияла на частоту возникновения ишемических и реперфузионных аритмий. Добавление в перфузионный раствор брадикинина во время ишемии—реперфузии оказывало антиаритмический эффект. Авторы заключили, что брадикинин не является триггером антиаритмического эффекта прекондиционирования.

В 1994 г. Т.М. Wall и соавт. [18] опубликовали результаты своих экспериментов на кроликах, которым в предсердие в течение 5 мин инфузироваи брадикинин за 10 мин до коронароокклюзии (30 мин) и реперфузии (2 ч). Оказалось, что названный пептид способствовал уменьшению индекса ЗИ/ОР в 2 раза. Предварительная блокада В2-рецепторов с помощью НОЕ 140 полностью устраняла инфаркт лимитирующий эффект брадикинина. Следовательно, кардиопротекторный эффект использованного кинина является следствием активации В2-рецепторов. В опытах на изолированном перфузируемом сердце кролика было показано, что 5-минутная перфузия сердца раствором, содержащим брадикинин, за 10 мин до коро-

нароокклюзии и реперфузии способствует снижению соотношения ЗИ/ОР в 2 раза [19]. Ингибитор NO-синтазы L-NAME, ингибитор циклооксигеназы индометацин не влияли на инфаркт лимитирующий эффект брадикинина. Антагонист В2-рецепторов НОЕ 140 полностью устранял инфаркт лимитирующий эффект брадикинина [19]. Также действовали ингибиторы протеинкиназы С (ПКС). Следовательно, стимуляция кардиальных В2-рецепторов обеспечивает повышение толерантности сердца к действию ишемии—реперфузии за счет активации ПКС. Согласно данным М. Goto и соавт. [19], кардиопротекторный эффект брадикинина связан с активацией ПКС, но не зависит от синтеза NO и простаноидов. Сходные данные были получены в экспериментах на изолированном перфузируемом сердце крысы, которое подвергали региональной ишемии (30 мин) и реперфузии (2 ч) [24]. Предварительное добавление в перфузат брадикинина обеспечивало уменьшение ЗИ/ОР в 4 раза по сравнению с контролем (ишемия—реперфузия без препаратов). Антагонист В2-рецепторов НОЕ 140 и хелеритрин, ингибитор ПКС устраняли инфаркт лимитирующий эффект брадикинина. Блокада NO-синтазы не влияла на кардиопротекторный эффект названного пептида [24]. В экспериментах на изолированном перфузируемом сердце крысы было показано, что добавление в перфузионный раствор брадикинина перед ишемией и реперфузией существенно улучшает параметры сократимости сердца в реперфузионном периоде [25]. Предварительное применение НОЕ 140 устраняло инотропный эффект ИП. Несколько иные данные получили J. Feng и соавт. [26]. На изолированном сердце кролика они моделировали кардиоплегическую ишемию. Внесение в перфузионный раствор брадикинина перед кардиopleгией способствовало улучшению параметров сократимости сердца в реперфузионном периоде. Блокада В2-рецепторов или NO-синтазы устраняла инотропный эффект брадикинина. На первый взгляд, эти данные противоречат результатам других исследователей [19, 24], которые обнаружили, что инфаркт-лимитирующий эффект брадикинина не зависит от активности NO-синтазы. Однако, вполне вероятно, что инотропный эффект брадикинина зависит от продукции NO. Кроме того, J. Feng и соавт. [26] использовали редко применяемую в эксперименте модель кардиоплегической ишемии сердца, что также могло сказаться на результатах исследования.

Интересные данные о механизме кардиопротекторного действия брадикинина получили китайские физиологи [27]. В опытах на изолированном перфузируемом сердце крысы они установили, что добавление в перфузионный раствор брадикинина перед глобальной ишемией (30 мин) и реперфузией (30 мин) в 3 раза снижает реперфузионный выброс из миокарда креатинфосфокиназы (КФК), которая является маркером некроза кардиомиоцитов, улучшает показатели сократимости сердца в реперфузионном периоде. Антагонист В2-рецепторов НОЕ 140 устраняет позитивные эффекты брадикинина, что согласуется с результатами вышеупомянутых работ. Кроме того, было установлено, что антагонист рецепторов ген-кальцитонинного пептида (ГКП) CGRP8-37 устраняет антинекротический эффект брадикинина. Также действовал и капсаицин [27], истощающий депо ГКП в афферентных нервных волокнах, иннервирующих сердце и другие органы [28]. Следовательно, цепочка сигнальных событий строится следующим образом: брадикинин → В2-рецепторы → высвобождение ГКП → ГКП-рецепторы → ПКС → повышение толерантности сердца к ишемии—ре-

перфузии. Впрочем, данные китайских физиологов пока не подтверждены другими авторами.

В 2001 г. были опубликованы результаты исследований M.V. Cohen и соавт. [29], которые в экспериментах на изолированном перфузируемом сердце кролика показали, что инфаркт лимитирующий эффект брадикинина на проявляется в условиях ингибирования митохондриальных АТФ-чувствительных  $K^+$ -каналов (митокАТФ-каналы) 5-гидроксида каноатом. Антиоксидант N-2-меркаптопропионилглицин также устранял кардиопротекторный эффект брадикинина [29]. В экспериментах на изолированном перфузируемом сердце было показано [30], что внесение в перфузионный раствор перед глобальной ишемией брадикинина улучшает сократимость сердца в реперфузионном периоде. Указанный эффект брадикинина не проявлялся в условиях ингибирования NO-синтазы, PKC или блокады митокАТФ-каналов [30].

Предполагают, что события в клетке могут развиваться следующим образом: брадикинин  $\rightarrow$  В2-рецепторы  $\rightarrow$  NO-синтаза  $\rightarrow$  NO  $\rightarrow$  гуанилатциклаза  $\rightarrow$  цГМФ  $\rightarrow$  протеинкиназа G  $\rightarrow$  митокАТФ-каналы  $\rightarrow$  активные формы кислорода (АФК)  $\rightarrow$  активация PKC  $\rightarrow$  повышение толерантности сердца к ишемии—реперфузии [31, 32].

Существуют и другие дивергентные сигнальные пути реализации кардиопротекторного эффекта брадикинина. В экспериментах на изолированных кардиомиоцитах были получены данные о том, что в кардиопротекторном действии брадикинина помимо АФК принимает участие протеинкиназа Akt (киназа, выделенная из AKR Thymoma cell line) [33]. В опытах на изолированном перфузируемом сердце кролика установлено, что брадикинин не только усиливает продукцию АФК, но и активирует тандем MEK—ERK [34], где MEK — митогенактивированная протеинкиназа (mitogen-activated protein kinase), ERK — экстрацеллюлярная сигналируемая киназа (extracellular signal-regulated kinase). По мнению авторов, в активации этих киназ важную роль играет трансактивация EGF-рецепторов (рецепторов эпидермального фактора роста, epidermal growth factor) [34]. Год спустя тем же авторским коллективом были получены косвенные данные против трансактивации EGF-рецепторов в ответ на стимуляцию брадикининовых рецепторов [35]. Трансактивации рецепторов как механизму внутриклеточной сигнализации в настоящее время уделяется большое внимание [36]. Полагают, что трансактивация EGF-рецепторов обеспечивает повышение активности тандема PI3K—Akt, где PI3K — phosphatidylinositol-3-kinase (фосфатидилинозитол-3-киназа), и тандема MEK—ERK [36], поэтому остается неясным, как сигнал с В2-рецептора передается на указанные киназы, если не происходит трансактивации EGF-рецептора.

В экспериментах на изолированном перфузируемом сердце, подвергнутом кардиоплегической ишемии, продемонстрировано, что брадикинин препятствует апоптозу кардиомиоцитов [37]. Антиапоптотное действие брадикинина авторы объясняют фосфорилированием белка Bad (Bcl-xL/Bcl-2-associated death promoter protein), регулирующего открытие МРТ-поры (поры, регулирующей проницаемость митохондрий, mitochondrial permeability transition pore). Открытие названной поры вызывает гибель клетки в результате апоптоза [38], а фосфорилирование белка Bad препятствует открытию МРТ-поры [37]. В связи с этим следует отметить, что вышеупомянутая Akt-киназа ингибирует апоптоз [39, 40], возможно, за счет фосфорилирования белка Bad.

Таким образом, экзогенный брадикинин имитирует инфаркт-лимитирующий, инотропный, антиапоптотный эффект ишемического прекодиционирования. В то же время, брадикинин не является триггером антиаритмического эффекта ИП. Реализация кардиопротекторного эффекта ИП осуществляется за счет активации по меньшей мере 3 сигнальных путей. Первый: брадикинин  $\rightarrow$  В2-рецепторы  $\rightarrow$  NO  $\rightarrow$  гуанилатциклаза  $\rightarrow$  цГМФ  $\rightarrow$  протеинкиназа G  $\rightarrow$  митокАТФ-каналы  $\rightarrow$  АФК  $\rightarrow$  активация PKC  $\rightarrow$  кардиопротекция. Второй: брадикинин  $\rightarrow$  В2-рецепторы  $\rightarrow$  высвобождение ГКП  $\rightarrow$  ГКП-рецепторы  $\rightarrow$  PKC  $\rightarrow$  кардиопротекция. Третий: брадикинин  $\rightarrow$  В2-рецепторы  $\rightarrow$  MEK—ERK, PI3K—Akt  $\rightarrow$  кардиопротекция.

### Возможность применения в кардиохирургической практике

Наиболее распространенным кардиохирургическим вмешательством является коронарное шунтирование (КШ), которое часто выполняют в условиях кардиоплегической остановки (глобальной ишемии) сердца, поэтому мы проанализируем экспериментальные работы, посвященные кардиопротекторным эффектам брадикинина в условиях кардиopleгии сердца.

Выше мы уже сообщали об антиапоптотном эффекте брадикинина в условиях моделирования кардиоплегической остановки изолированного сердца [37]. В 2005 г. тот же коллектив исследователей опубликовал результаты экспериментов на изолированном перфузируемом сердце кролика, которое подвергали 60-минутной глобальной кардиоплегической ишемии и последующей реперфузии [41]. Оказалось, что подобное воздействие вызывает нарушение эндотелийзависимой вазодилатации коронарных артерий.

Предварительная 10-минутная перфузия сердца раствором, содержащим брадикинин, предупреждала появление эндотелиальной дисфункции [41]. Представленные данные свидетельствуют о том, что брадикинин может предупреждать повреждения сердца, вызванные кардиоплегической ишемией и реперфузией.

Установлено, что сама кардиopleгия может вызывать увеличение содержания эндогенного брадикинина. Так, через 15 мин после КШ уровень брадикинина в плазме крови увеличивался в 3 раза по сравнению с исходными значениями до операции [42]. В ходе операции отмечалось дальнейшее увеличение содержания брадикинина в крови. К исходным значениям этот показатель возвращался только через 24 ч после КШ [42]. По данным D.J. Campbell и соавт. [43], через 10 мин после начала КШ уровень брадикинина в артериальной крови возрастает в 20 раз по сравнению с аналогичным показателем до операции. Затем наблюдается снижение концентрации пептида. Однако этот показатель остается повышенным по меньшей мере в течение 10 ч после КШ [43]. Учитывая вышеприведенные данные, можно полагать, что подобное увеличение содержания брадикинина в крови носит защитно-приспособительное значение.

Мы уже приводили экспериментальные данные о том, что ингибиторы АПФ оказывают кардиопротекторный эффект, связанный с увеличением уровня эндогенного брадикинина. В 2007 г. M.A. Leesag и соавт. [44] попытались выяснить, может ли ингибитор АПФ эналаприлат повышать устойчивость сердца к ишемии—реперфузии во время коронарной ангиопластики (чрескожное коронарное вмешательство, ЧКВ). Оказалось, что названный препарат предотвращает подъем сегмента ST во время ан-



гиопластики [44]. Аналогичные данные получили I. Ungi и соавт. [45]. Эти факты говорят о том, что ингибиторы АПФ повышают устойчивость сердца человека к действию ишемии.

В 1999 г. М.А. Leesag и соавт. [46] опубликовали результаты своих клинических наблюдений над пациентами с ЧКВ. Брадикинин инфузирова­ли интракоронарно в течение 10 мин перед ЧКВ. Выяснилось, что названный пептид достоверно уменьшает подъем сегмента ST во время раздувания (ишемия) интракоронарного баллона. Следовательно, брадикинин усиливает толерантность сердца человека к ишемии.

Брадикинин может усиливать резистентность сердца человека к действию кардиоплегической ишемии. Пациентам перед КШ внутривенно в течение 6 мин инфузиро­вали брадикинин со скоростью 4 мкг/мин [47]. Пептид вызывал снижение артериального давления на 27%. Брадикинин способствовал достоверному снижению уровня кардиоспецифического маркера некроза кардиомиоцитов КФК-МВ в сыворотке крови в послеоперационном периоде, что свидетельствует о кардиопротекторном эффекте этого кинина. В то же время кардиохирургам не удалось обнаружить статистически значимого влияния кинина на уровень кардиоспецифического тропонина I [47]. Эти данные были подтверждены в более поздней публикации того же авторского коллектива [48]. По-видимому, доза пептида оказалась недостаточной, чтобы существенно повысить толерантность сердца к ишемии–реперфузии. Однако дальнейшее увеличение скорости инфузии брадикинина не представляется возможным, поскольку кинин оказывает выраженный гипотензивный эффект.

По мнению Н. Heitsch [3], говорить о перспективах клинического применения агонистов В2-рецепторов можно будет после создания препаратов, лишенных гипотензивных и провоспалительных свойств. Уже проведены доклинические испытания пептидных (JMV-1116, RMP-7) и непептидных (FR-190997, FR-191413) агонистов В2-рецепторов [3]. К сожалению, эти препараты обладали провоспалительными и гипотензивными свойствами [3].

### Заключение

Содержание брадикинина в миокарде увеличивается в ответ на кратковременную ишемию–реперфузию, что является одним из доказательств его триггерной роли в ИП. Фармакологически индуцированное увеличение в миокарде содержания эндогенного брадикинина и каллидин-подобного пептида повышает устойчивость сердца к действию ишемии–реперфузии. Эксперименты на генетически модифицированных мышах свидетельствуют о том, что кинины участвуют в пре­кондиционировании, но не являются единственными эндогенными триггерами пре­кондиционирования. Блокада В2-рецепторов

устраняет антиаритмический, инфаркт лимитирующий эффект пре­кондиционирования, элиминирует ИП-индуцированную устойчивость сердца к окислительному стрессу. При «жестком» пре­кондиционировании (один сеанс десятиминутной ишемии или несколько сеансов ишемии–реперфузии) достигается максимальная активация всех рецепторов, задействованных в формировании адаптивного феномена пре­кондиционирования, поэтому блокада брадикининовых рецепторов не устраняет кардиопротекторный эффект ИП. Экзогенный брадикинин имитирует инотропный, антиапоптозный и кардиопротекторный эффект пре­кондиционирования, но не воспроизводит антиаритмический эффект пре­кондиционирования. Внутривенная или интракоронарная инфузия брадикинина усиливает толерантность сердца человека к ишемии–реперфузии. Реализация кардиопротекторного эффекта ИП осуществляется за счет активации по меньшей мере трех сигнальных путей. Первый: брадикинин → В2-рецепторы → NO• → гуанилатциклаза → цГМФ → протеинкиназа G → митоКАТФ-каналы → АФК → активация ПКС → кардиопротекция. Второй: брадикинин → В2-рецепторы → высвобождение ГКП → ГКП-рецепторы → ПКС → кардиопротекция. Третий: брадикинин → В2-рецепторы → МЕК-ERK, PI3K-Акт → кардиопротекция. Говорить о перспективах клинического применения агонистов В2-рецепторов можно будет после создания агонистов В2-рецепторов, лишенных гипотензивных и провоспалительных свойств.

193

### Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты №№ 14-04-90004, 13-04-98049, 14-04-31009, 14-04-31005, 15-54-53003, 15-54-53021) и Российского научного фонда (РНФ), грант 14-15-00008, а также по результатам конкурса РНФ «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований вновь создаваемыми научной организацией и вузом совместно с лабораториями».

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### Выражение признательности

Авторы благодарят за техническую помощь Н.А. Данильченко.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986; 74 (5): 1124–1136.
2. Kakoki M., Smithies O. The kallikrein-kinin system in health and in diseases of the kidney. *Kidney Int*. 2009; 75 (10): 1019–1030.
3. Heitsch H. The therapeutic potential of bradykinin B2 receptor agonists in the treatment of cardiovascular disease. *Exp. Opin. Investig. Drugs*. 2003; 12 (5): 759–770.
4. Messadi-Laribi E., Griol-Charhbil V., Gaies E., Vincent M.P., Heudes D., Meneton P., Alhenc-Gelas F., Richer C. Cardioprotection and kallikrein-kinin system in acute myocardial ischaemia in mice. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*. 2008; 35 (4): 489–493.
5. Leeb-Lundberg L.M., Marceau F., Müller-Esterl W., Pettibone D.J., Zuraw B.L. International union of pharmacology. XLV. Classification of the kinin receptor family: from molecular mechanisms to pathophysiological consequences. *Pharmacol. Rev*. 2005; 57 (1): 27–77.



6. Маслов Л.Н., Лишманов Ю.Б., Соленкова Н.В. Адаптация миокарда к ишемии. Первая фаза ишемического preconditionирования. *Успехи физиологических наук*. 2006; 37 (3): 25–41.
7. Parratt J.R., Vegh A., Zeitlin I.J., Ahmad M., Oldroyd K., Kaszala K., Papp J.G. Bradykinin and endothelial cardiac myocyte interactions in ischemic preconditioning. *Am. J. Cardiol.* 1997; 80 (3): 124–131.
8. Schulz R., Post H., Vahlhaus C., Heusch G. Ischemic preconditioning in pigs: a graded phenomenon: its relation to adenosine and bradykinin. *Circulation*. 1998; 98 (10): 1022–1029.
9. Hartman J.C., Wall T.M., Hullinger T.G., Shebuski R.J. Reduction of myocardial infarct size in rabbits by ramipril: reversal by the bradykinin antagonist HOE 140. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1993; 21 (6): 996–1003.
10. Miki T., Miura T., Ura N., Ogawa T., Suzuki K., Shimamoto K., Iimura O. Captopril potentiates the myocardial infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning through bradykinin B2 receptor activation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996; 28 (6): 1616–1622.
11. Nakano A., Miura T., Miki T., Nozawa Y., Ichikawa Y., Ura N., Shimamoto K. Effects of neutral endopeptidase 24.11 inhibition on myocardial infarct size and ischemic preconditioning in rabbits. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2002; 366 (4): 335–342.
12. Liu X., Lukasova M., Zubakova R., Lewicka S., Hilgenfeldt U. Kallidin-like peptide mediates the cardioprotective effect of the ACE inhibitor captopril against ischaemic reperfusion injury of rat heart. *Brit. J. Pharmacol.* 2006; 148 (6): 825–832.
13. Yang X.P., Liu Y.H., Scicli G.M., Webb C.R., Carretero O.A. Role of kinins in the cardioprotective effect of preconditioning: study of myocardial ischemia/reperfusion injury in B2 kinin receptor knockout mice and kininogen-deficient rats. *Hypertension*. 1997; 30 (3 Pt. 2): 735–740.
14. Griol-Charhbil V., Messadi-Laribi E., Bascands J.L., Heudes D., Meneton P., Giudicelli J.F., Alhenc-Gelas F., Richer C. Role of tissue kallikrein in the cardioprotective effects of ischemic and pharmacological preconditioning in myocardial ischemia. *FASEB J.* 2005; 19 (9): 1172–1174.
15. Vegh A., Papp J.G., Parratt J. Attenuation of the antiarrhythmic effects of ischaemic preconditioning by blockade of bradykinin B2 receptors. *Brit. J. Pharmacol.* 1994; 113 (4): 1167–1172.
16. Miura T., Ishimoto R., Sakamoto J., Tsuchida A., Suzuki K., Ogawa T., Shimamoto K., Iimura O. Suppression of reperfusion arrhythmia by ischemic preconditioning in the rat: is it mediated by the adenosine receptor, prostaglandin, or bradykinin receptor? *Basic Res. Cardiol.* 1995; 90 (3): 240–246.
17. Driamov S., Bellahcene M., Ziegler A., Barbosa V., Traub D., Butz S., Buser P.T., Zaugg C.E. Antiarrhythmic effect of ischemic preconditioning during low flow ischemia. The role of bradykinin and sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels. *Basic Res. Cardiol.* 2004; 99 (4): 299–308.
18. Wall T.M., Sheehy R., Hartman J.C. Role of bradykinin in myocardial preconditioning. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994; 270 (2): 681–689.
19. Goto M., Liu Y., Yang X.M., Ardell J.L., Cohen M.V., Downey J.M. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. *Circ. Res.* 1995; 77 (3): 611–621.
20. Jin Z.Q., Chen X. Bradykinin mediates myocardial ischaemic preconditioning against free radical injury in guinea-pig isolated heart. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1998; 25 (11): 932–935.
21. Vegh A., Papp J.G., Szekeres L., Parratt J.R. Prevention by an inhibitor of the L-arginine-nitric oxide pathway of the antiarrhythmic effects of bradykinin in anesthetized dogs. *Brit. J. Pharmacol.* 1993; 110 (1): 18–19.
22. Sun W., Wainwright C.L. The potential antiarrhythmic effects of exogenous and endogenous bradykinin in the ischaemic rat heart *in vivo*. *Coron. Artery Dis.* 1994; 5 (6): 541–550.
23. Driamov S.V., Bellahcene M., Butz S., Buser P.T., Zaugg C.E. Bradykinin is a mediator, but unlikely a trigger, of antiarrhythmic effects of ischemic preconditioning. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2007; 18 (1): 93–99.
24. Bugge E., Ytrehus K. Bradykinin protects against infarction but does not mediate ischemic preconditioning in the isolated rat heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1996; 28 (12): 2333–2341.
25. Starkopf J., Bugge E., Ytrehus K. Preischemic bradykinin and ischaemic preconditioning in functional recovery of the globally ischaemic rat heart. *Cardiovasc. Res.* 1997; 33 (1): 63–70.
26. Feng J., Li H., Rosenkranz E.R. Bradykinin protects the rabbit heart after cardioplegic ischemia via NO-dependent pathways. *Ann. Thorac. Surg.* 2000; 70 (6): 2119–2124.
27. Song Q.J., Li Y.J., Deng H.W. Cardioprotective effect of bradykinin-induced preconditioning mediated by calcitonin gene-related peptide in isolated rat heart. *Acta Pharmacol. Sin.* 1999; 20 (2): 162–166.
28. Burgdorf C., Dendorfer A., Kurz T., Richardt G. Calcitonin gene-related peptide does not interact with sympathetic activity in myocardial ischemia. *Regul. Pept.* 2005; 125 (1–3): 99–102.
29. Cohen M.V., Yang X.M., Liu G.S., Heusch G., Downey J.M. Acetylcholine, bradykinin, opioids, and phenylephrine, but not adenosine, trigger preconditioning by generating free radicals and opening mitochondrial K<sub>ATP</sub> channels. *Circ. Res.* 2001; 89 (3): 273–278.
30. Yoshida H., Kusama Y., Kodani E., Yasutake M., Takano H., Atarashi H., Kishida H., Takano T. Pharmacological preconditioning with bradykinin affords myocardial protection through NO-dependent mechanisms. *Int. Heart J.* 2005; 46 (5): 877–887.
31. Oldenburg O., Qin Q., Krieg T., Yang X.M., Philipp S., Critz S.D., Cohen M.V., Downey J.M. Bradykinin induces mitochondrial ROS generation via NO, cGMP, PKG, and mitoKATP channel opening and leads to cardioprotection. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004; 286 (1): 468–476.
32. Cohen M.V., Downey J.M. Is it time to translate ischemic preconditioning's mechanism of cardioprotection into clinical practice? *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* 2011; 16 (3–4): 273–280.
33. Krieg T., Qin Q., Philipp S., Alexeyev M.F., Cohen M.V., Downey J.M. Acetylcholine and bradykinin trigger preconditioning in the heart through a pathway that includes Akt and NOS. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004; 287 (6): 2606–2611.
34. Philipp S., Critz S.D., Cui L., Solodushko V., Cohen M.V., Downey J.M. Localizing extracellular signal regulated kinase (ERK) in pharmacological preconditioning's trigger pathway. *Basic Res. Cardiol.* 2006; 101 (2): 159–167.
35. Cohen M.V., Philipp S., Krieg T., Cui L., Kuno A., Solodushko V., Downey J.M. Preconditioning mimetics bradykinin and DADLE activate PI3-kinase through divergent pathways. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2007; 42 (4): 842–851.
36. Маслов Л.Н., Хедрик Дж.П., Мешоулам Р., Крылатов А.В., Лишманов А.Ю., Барзах Е.И., Нарыжная Н.В., Жанг И. Роль трансактивации рецепторов в кардиопротекторных эффектах preconditionирования и postconditionирования. *Российский физиологический журнал*. 2012; 98 (3): 305–317.
37. Feng J., Bianchi C., Sandmeyer J.L., Sellke F.W. Bradykinin preconditioning improves the profile of cell survival proteins and limits apoptosis after cardioplegic arrest. *Circulation*. 2005; 112 (9): 190–195.
38. Halestrap A.P. Calcium, mitochondria and reperfusion injury: a pore way to die. *Biochem. Soc. Trans.* 2006; 34 (Pt. 2): 232–237.
39. Маслов Л.Н., Мрочек А.Г., Шелёткин И.А., Хедрик Дж.П., Хануш Л., Барзах Е.И., Лишманов А.Ю., Горбунов А.С., Цибульников С.Ю., Байков А.Н. Роль протеинкиназа в формировании адаптивного феномена ишемического postconditionирования сердца. *Российский физиологический журнал*. 2013; 99 (4): 433–452.
40. Kandal E.S., Hay N. The regulation and activities of the multifunctional serine/threonine kinase Akt/PKB. *Exp. Cell. Res.* 1999; 253 (1): 210–229.

41. Feng J., Bianchi C., Li J., Sellke F.W. Bradykinin preconditioning preserves coronary microvascular reactivity during cardioplegia reperfusion. *Ann. Thorac. Surg.* 2005; 79 (3): 911–916.
42. Cugno M., Nussberger J., Biglioli P., Alamanni F., Coppola R., Agostoni A. Increase of bradykinin in plasma of patients undergoing cardiopulmonary bypass: the importance of lung exclusion. *Chest.* 2001; 120 (6): 1776–1782.
43. Campbell D.J., Dixon B., Kladis A., Kemme M., Santamaria J.D. Activation of the kallikrein–kinin system by cardiopulmonary bypass in humans. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2001; 281 (4): 1059–1070.
44. Leesar M.A., Jneid H., Tang X.L., Bolli R. Pretreatment with intracoronary enalaprilat protects human myocardium during percutaneous coronary angioplasty. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007; 49 (15): 1607–1610.
45. Ungi I., Pálincás A., Nemes A., Ungi T., Thury A., Sepp R., Horváth T., Forster T., Végh A. Myocardial protection with enalaprilat in patients unresponsive to ischemic preconditioning during percutaneous coronary intervention. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2008; 86 (12): 827–834.
46. Leesar M.A., Stoddard M.F., Manchikalapudi S., Bolli R. Bradykinin induced preconditioning in patients undergoing coronary angioplasty. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999; 34 (3): 639–650.
47. Wei M., Wang X., Kuukasjärvi P., Laurikka J., Rinne T., Honkonen E.L., Tarkka M. Bradykinin preconditioning in coronary artery bypass grafting. *Ann. Thorac. Surg.* 2004; 78 (2): 492–497.
48. Wang X., Wei M., Kuukasjärvi P., Laurikka J., Rinne T., Moilanen E., Tarkka M. The anti-inflammatory effect of bradykinin preconditioning in coronary artery bypass grafting (bradykinin and preconditioning). *Scand. Cardiovasc. J.* 2009; 43 (1): 72–79.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Маслов Леонид Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории экспериментальной кардиологии НИИ кардиологии; доцент кафедры экономики природопользования Национального исследовательского Томского политехнического университета

Адрес: 634012, Томск, ул. Киевская, д. 111А, тел.: +7 (3822) 26-21-74, e-mail: Maslov@cardio-tomsk.ru

**Нарыжная Наталья Владимировна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной кардиологии НИИ кардиологии

Адрес: 634012, Томск, ул. Киевская, д. 111А, тел.: +7 (3822) 26-21-74, e-mail: natalynar@yandex.ru

**Подоксенов Юрий Кириллович**, доктор медицинских наук, руководитель отделения реанимации НИИ кардиологии

Адрес: 634012, Томск, ул. Киевская, д. 111А, тел.: +7 (3822) 26-21-74, e-mail: Maslov@cardio-tomsk.ru

**Горбунов Александр Сергеевич**, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной кардиологии НИИ кардиологии

Адрес: 634012, Томск, ул. Киевская, д. 111А, тел.: +7 (3822) 26-21-74, e-mail: barabator@sibmail.com

**Zhang Yi**, доктор философии, профессор и директор отдела физиологии Хебейского медицинского университета

Адрес: Hebei Medical University, 361 East zhongshan Road, Shijiazhuang 050017, China, e-mail: zhyhenry@hotmail.com

**Pei Jian-Ming**, доктор философии, профессор отдела физиологии Четвертого Военно-медицинского университета

Адрес: Fourth Military Medical University, No 169, West Changle Road, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China, e-mail: Jmpei8@fmmu.edu.cn

И.А. Хлопина<sup>1</sup>, Е.Н. Шацова<sup>1</sup>, В.В. Лупачев<sup>1,2</sup>, А.Н. Плакуев<sup>1</sup>, А.В. Чернозёмова<sup>3</sup>, Р.В. Кубасов<sup>1</sup><sup>1</sup> Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Российская Федерация<sup>2</sup> Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова, Архангельск, Российская Федерация<sup>3</sup> Первая городская клиническая больница им. Е.Е. Волоевич, Архангельск, Российская Федерация

## Характеристика диастолической функции левого желудочка у больных после аортокоронарного шунтирования

Нарушения диастолической функции сердца являются преобладающими среди пациентов, страдающих хронической сердечной недостаточностью. В связи с этим поиск и применение методов, улучшающих ее, остаются приоритетными в терапии сердечно-сосудистых заболеваний. **Цель исследования:** оценить эффективность операции прямой реваскуляризации миокарда на функциональные возможности левого желудочка у больных, страдающих ишемической болезнью сердца. **Методы:** для оценки диастолической функции левого желудочка с использованием доплерэхокардиографии были обследованы пациенты (30 человек без инфаркта миокарда, 44 — с инфарктом в анамнезе) до, после и в течение первого года после операции аортокоронарного шунтирования. Анализ полученных показателей позволил выделить ригидный и псевдонормальный тип нарушения трансмитрального кровотока. **Результаты:** по итогам наблюдения отмечено, что трансмитральный кровоток у пациентов после операции улучшился. У больных без инфаркта миокарда в анамнезе снизился показатель IVRT ( $p = 0,046$ ), характеризующий клеточную релаксацию миокарда, при этом улучшилось активное расслабление реваскуляризованного миокарда: увеличилось отношение  $E/A$  ( $p < 0,001$ ) за счет уменьшения компонента  $A$  ( $p = 0,003$ ). Изменения показателей легочного венозного спектра сопровождалось улучшением активной (снижение PVD;  $p = 0,051$ ) и пассивной релаксации левого желудочка (снижение PVA;  $p = 0,028$ ). У больных после инфаркта миокарда через 1 год после операции снизился IVRT ( $p = 0,040$ ) и уменьшился  $A$  ( $p = 0,041$ ). Также у них улучшилась функция расслабления предсердия (снижение PVS;  $p = 0,037$ ). **Заключение:** аортокоронарное шунтирование способствует восстановлению диастолической функции левого желудочка, а используемый метод доплерэхокардиографии может служить необходимым критерием в оценке адекватности применяемого метода лечения.

**Ключевые слова:** диастолическая функция миокарда, аортокоронарное шунтирование, доплерэхокардиография.

(Для цитирования: Хлопина И.А., Шацова Е.Н., Лупачев В.В., Плакуев А.Н., Чернозёмова А.В.3, Кубасов Р.В. Характеристика диастолической функции левого желудочка у больных после аортокоронарного шунтирования. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 196–202. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1313)

И.А. Hlopina<sup>1</sup>, E.N. Shatsova<sup>1</sup>, V.V. Lupachev<sup>1,2</sup>, A.N. Plakuev<sup>1</sup>, A.V. Chernozymova<sup>3</sup>, R.V. Koubassov<sup>1</sup><sup>1</sup> Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation<sup>2</sup> M.V. Lomonosov Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk, Russian Federation<sup>3</sup> E.E. Volosevich First Municipal Clinical Hospital, Arkhangelsk, Russian Federation

## Characteristics of Left Ventricular Diastolic Function in Patients before and after Coronary Artery Bypass Grafting

Diastolic heart dysfunction occurs essentially in patients who suffer from chronic heart failure. In this context an investigation and application of different methods for diastolic function improvement remain a priority in the therapy of cardiovascular diseases. **Objective:** Our aim was to estimate coronary artery bypass grafting effect on the left ventricular functionality in patients with coronary heart disease. **Methods:** Patients (30 men without myocardial infarction and 44 — with myocardial infarction) were investigated by Doppler Echocardiography before and after coronary artery bypass grafting for left ventricular diastolic function assessment. In addition, during the year after operation examinations were carried out. Analysis of the data allowed detecting two types of disorders of transmittal flow: rigid and pseudonormal. **Results:** Our investigation showed that transmittal parameters improved in patients after operation. Patients without myocardial infarction in anamnesis had a myocardium cell relaxation improvement (IVRT decreasing;  $p = 0,046$ ), but an active myocardium relaxation turned for the better (increasing of  $E/A$  ( $p < 0,001$ ) by component  $A$  lowering ( $p = 0,003$ ). Changes of pulmonary veins parameters were followed by the improvement of left heart ventricle relaxation: active — PVD decreasing,  $p = 0,051$ ; and passive — PVA decreasing,  $p = 0,028$ . Patients with myocardial infarction in anamnesis had an IVRT decreasing ( $p = 0,040$ ) and  $A$  decreasing ( $p = 0,041$ ). In addition, in this group left atrial function improved (PVS decreasing;  $p = 0,037$ ). **Conclusion:** Coronary artery bypass grafting is effective in left ventricular diastolic function improvement and Doppler Echocardiography method can become an important criterion to estimate the treatment adequacy.

**Key words:** diastolic myocardial function, coronary artery bypass grafting, Doppler Echocardiography.

(For citation: Hlopina I.A., Shatsova E.N., Lupachev V.V., Plakuev A.N., Chernozymova A.V., Koubassov R.V. Diastolic Functions Characteristic of Heart Left Ventricle at Patients before and after Coronary Artery Bypass Grafting. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 196–202. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1313)

### Обоснование

Несмотря на успехи в профилактике и лечении, достигнутые за последнее десятилетие, ишемическая болезнь сердца (ИБС) по-прежнему занимает ведущие позиции в структуре заболеваемости и смертности населения развитых индустриальных стран. Нарушение диастолической функции сердца играет большую роль в патогенезе хронической сердечной недостаточности (ХСН). Диастолическую дисфункцию миокарда определяют как невозможность левого желудочка (ЛЖ) принимать кровь под низким давлением и наполняться без компенсаторного повышения давления в левом предсердии [1]. По данным рабочей группы Европейского общества кардиологов, диастолическая сердечная недостаточность составляет 54% всех случаев ХСН [2]. При диастолической дисфункции миокарда наполнение ЛЖ замедлено, отсрочено либо происходит не полностью, вследствие чего развиваются признаки легочного или системного застоя. Нарушения диастолической функции ЛЖ в результате ишемии и кардиосклероза в настоящее время являются общепризнанными. Среди больных с ХСН значительную часть составляют лица с нормальной сократительной способностью миокарда [3]. Развитие у них ХСН можно объяснить только нарушением диастолической функции сердца. У пациентов с постинфарктным кардиосклерозом и нормальной фракцией выброса ЛЖ на передний план могут выходить именно нарушения диастолической функции [4]. Торможение расслабления миокарда происходит из-за сниженного кровоснабжения миокарда, и в свою очередь усугубляет ишемию сердечной мышцы. В норме 70–80% коронарного кровотока (при тахикардии несколько меньше) приходится на период диастолы. При замедлении расслабления миокарда время, в течение которого могут наполняться кровью коронарные артерии, сокращается, т.к. в начале диастолы миокард продолжает находиться в сокращенном состоянии. Интрамуральные сосуды сдавливаются, диастолическое давление в ЛЖ повышается, что приводит к ухудшению субэндокардиального кровотока [5]. Неполноценная диастола в итоге неблагоприятно отражается на систоле ЛЖ, что способствует развитию не только диастолической, но и систолической недостаточности кровообращения [6]. Немногочисленные исследования, которые проводились без оценки легочного венозного потока, указывали на нормализующее действие

аортокоронарного шунтирования (АКШ) на диастолическую дисфункцию ЛЖ у больных с артериальной гипертензией (АГ) и крупноочаговым инфарктом миокарда (ИМ) и у пациентов с АГ без ИМ в анамнезе [7].

Целью исследования было изучить влияние операции прямой реваскуляризации миокарда на диастолическую функцию ЛЖ у больных ИБС.

### Методы

#### Дизайн исследования

Проведено нерандомизированное открытое проспективное сравнительное исследование.

#### Критерии соответствия

Критериями включения были наличие ИБС с признаками нарушений диастолической функции ЛЖ, перенесенная операция АКШ. Критерий исключения — порок сердца.

#### Условия проведения

АКШ пациентам проведено на работающем сердце в отделении сердечно-сосудистой хирургии Первой городской клинической больницы им. Е.Е. Волосевич г. Архангельска.

#### Продолжительность исследования

Исследование проводилось в течение 2013–2014 гг.

#### Исходы исследования

Основной исход исследования — установление эффективности операции реваскуляризации миокарда в лечении ишемической болезни сердца. Дополнительный исход исследования — доплерографические показатели, характеризующие диастолическую функцию левого желудочка, значительно улучшаются после АКШ.

#### Анализ в подгруппах

В ходе исследования больные в возрасте 48–63 лет (средний возраст 56,4±6,3 года) были разделены на 2 группы в зависимости от наличия в анамнезе ИМ (табл. 1). Первую группу составили пациенты без ИМ в анамнезе. Вторая группа — пациенты, перенесшие Q-инфаркт миокарда до операции, половина из них — в сроки, не превышающие 1 года до операции. Самой

Таблица 1. Клинико-демографическая характеристика пациентов

Показатели		Без ИМ (n =30), 1-я группа	С ИМ (n =44), 2-я группа
Возраст, лет		56,6±7,70	54,9±6,37
Длительность ИБС, лет		4,2±3,82	4,9±5,77
Классы стенокардии:	ФК II	2 (6,7%)	0
	ФК III–IV	26 (86,6%)	40 (90,9%)
	Нестабильная стенокардия	2 (6,7%)	4 (9,1%)
Локализация ИМ	Передний	0	24 (54,5%)
	Задний	0	20 (45,5%)
Клинические признаки ХСН (по NYHA)	I ФК	17 (56,7%)	7 (15,9%)
	II ФК	13 (43,3%)	36 (81,8%)
	III ФК	0	1 (2,3%)
Число пораженных коронарных артерий	1	5 (16,7%)	0
	2	11 (36,7%)	20 (45,5%)
	3	14 (46,6%)	24 (54,5%)

Примечание (здесь, в табл. 2–4 и в рис.). ИМ — инфаркт миокарда, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ФК — функциональный класс, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.



частой локализацией ИМ была передняя стенка ЛЖ (54,5% случаев), тогда как нижний ИМ встречался у 45,5% больных. У пациентов с ИМ в анамнезе наиболее часто присутствовали клинические признаки ХСН II функционального класса (ФК).

После АКШ все пациенты проходили реабилитацию в профилактории «Беломорье» (Архангельская обл.) в течение 2 нед. Программа реабилитации состояла из физических тренировок (лечебная физическая культура, ходьба), курса физиотерапии (магнитотерапии), радоновых ванн, фитотерапии, обучения в «Школе для больных» и диетотерапии. Далее, в течение года все больные посещали амбулаторный центр физической реабилитации.

В группу сравнения были включены лица аналогичной возрастной группы, не имевшие в анамнезе сердечно-сосудистой патологии и других хронических заболеваний, не предъявлявшие жалоб на момент исследования.

### Методы регистрации исходов

Определение показателей диастолической функции ЛЖ обследуемых больных проводилось на аппарате ALOKA-4000 (Япония) до операции и через 12 мес после реваскуляризации миокарда. Оценка диастолической функции проводили по трансмитральному кровотоку (ТМК) и анализу скорости легочного венозного потока. При анализе данных доплерэхокардиографии учитывали максимальную скорость кровотока в фазу быстрого наполнения (пик E), максимальную скорость потока в систолу предсердия (пик A), отношение E/A, время замедления кровотока раннего диастолического наполнения ЛЖ (DT), время изоволюметрического расслабления (IVRT). Также оценивали параметры спектра легочных вен: максимальную скорость антеградного систолического потока PVS (м/с), максимальную скорость антеградного диастолического потока PVD (м/с), их соотношение PVS/PVD, максимальную скорость ретроградного диастолического потока PVA (м/с). Исходя из полученных параметров, выделили 3 типа нарушения ТМК: ригидный, псевдонормальный и рестриктивный.

У всех больных фракция изгнания составляла более 50%. Длительность заболевания на момент операции варьировала от 1 до 15 лет. Среднее число шунтов составило  $2,9 \pm 0,98$ .

### Этическая экспертиза

Исследование проведено в соответствии с Международными требованиями и Российскими этическими принципами и нормами. Все пациенты были информированы о том, что результаты обследования будут опубликованы и использованы в научных целях. Каждый пациент давал информированное добровольное согласие на участие в исследовании и на использование полученных материалов в работе. Проведение исследования одобрено на заседании Локального этического комитета СГМУ (выписка из протокола № 2-13 от 10.10.2013 г.).

### Статистический анализ

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью компьютерного пакета прикладных программ SPSS 14.0 (SPSS Inc., США). Результаты статистического анализа представлены в виде средних значений (M)  $\pm$  стандартное отклонение (SD). Критический уровень значимости  $p$  при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Для проверки статистической гипотезы разности средних значений зависимых выборок использовали критерий Вилкоксона, для независимых выборок — критерий Манна-Уитни.

## Результаты

### Участники исследования

Обследованы 74 пациента в возрасте от 48 до 63 лет (66 мужчин, 8 женщин), перенесшие АКШ. Артериальная гипертензия (АГ) в обеих группах выявлялась в 100% случаев. Наследственность по ИБС в первой группе встречалась реже, чем во второй (24,8 и 65,5%, соответственно;  $p = 0,019$ ). Частота курения, выявления избыточного веса или ожирения в сравниваемых группах не отличались. Три и более факторов риска прогрессирования атеросклероза имели 7 (23,8%) пациентов без ИМ в анамнезе и 27 (61,2%;  $p = 0,002$ ) пациентов, перенесших ИМ. Независимо от наличия ИМ в анамнезе повышенный уровень липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) обнаружен в 100% случаев. Статины принимали все пациенты. В течение первого года после АКШ оптимальный уровень ХС ЛПНП достигнут у 50% больных без ИМ в анамнезе и 47,7% пациентов с ИМ ( $p = 0,846$ ).

$\beta$ -Блокаторы использовал 71 (95,9%) больной, из них 35 (47,3%) — метопролол, остальные — бисопролол. Ингибиторы АПФ регулярно принимали 74 (100%) пациента, из них 28 (37,8%) — эналаприл, 12 (16,2%) — фозиноприл, 34 (46%) — периндоприл. Все больные получали постоянную терапию ацетилсалициловой кислотой. Группу сравнения составили 30 человек.

### Основные результаты исследования

Операция реваскуляризации была высокоэффективной, что подтверждается исчезновением стенокардической боли у 68 (98,6%) пациентов в течение 1 года после операции. Однако у 6 (8%) пациентов через 6 мес после АКШ была зарегистрирована безболевого ишемия при холтеровском мониторингировании ЭКГ.

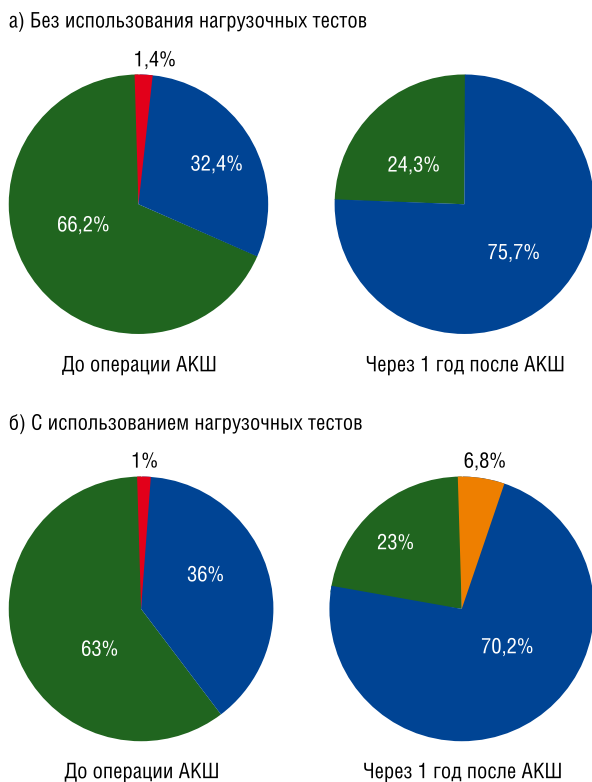
До операции у всех больных наблюдали признаки ХСН (рис.). ХСН I ФК была диагностирована у 24 (32,4%), II ФК — у 49 (66,2%), III ФК — у 1 (1,4%) пациента. Уже через 6 мес проявления ХСН I ФК встречались у 45 (60,8%), а через 1 год — у 56 (75,7%) прооперированных пациентов. ХСН II ФК через 6 мес после проведения АКШ имела место у 29 (39,2%) и через 1 год — у 18 (24,3%) оперированных, при этом не наблюдали ни одного пациента с ХСН III ФК. Таким образом, за наблюдаемый период клинические проявления ХСН у больных не прогрессировали.

Для объективизации оценки клинического состояния использовали тест с шестиминутной ходьбой (ТШХ).

В основном ФК ХСН по классификации NYHA соответствовал ФК по данным ТШХ. Оказалось, что через год по данным ТШХ полностью отсутствовали признаки ХСН у 5 (6,8%) больных. ХСН I ФК по данным ТШХ была установлена у 52 (70,2%), по классификации NYHA — у 56 (75,7%) пациентов. По классификации NYHA ХСН II ФК через год после АКШ имели 18 (24,3%), по данным ТШХ — 17 (22,9%) больных. Таким образом, по видимому, целесообразно использовать диагностические тесты в оценке степени тяжести ХСН.

Сравнительный анализ показателей диастолической функции между больными ИБС и условно здоровыми людьми показал наличие значимых различий (табл. 2). В группах пациентов с ИБС, как без ИМ, так и с ИМ в анамнезе, в сравнении с практически здоровыми лицами, выше оказались показатели диастолической функции: A ( $p = 0,049$  и  $p = 0,003$  для групп без ИМ и с ИМ, соответственно), DT ( $p < 0,001$  для обеих групп), IVRT ( $p < 0,001$  для обеих групп), PVS ( $p < 0,001$  для обеих групп), PVD

Рис. Функциональные классы хронической сердечной недостаточности у больных ишемической болезнью сердца.



Примечание. ■ — ФК 0, ■ — ФК I, ■ — ФК II, ■ — ФК III.

( $p < 0,001$  для обеих групп) и PVA ( $p < 0,001$  и  $p = 0,003$  для групп без ИМ и с ИМ, соответственно). В то же время у больных ИБС показатель максимальной скорости кровотока в фазу быстрого наполнения (пик E) оказался ниже по сравнению со здоровыми индивидуумами ( $p = 0,003$  и  $p < 0,001$  для групп без ИМ и с ИМ, соответственно). Таким образом, обнаруженные изменения диастолической функции сердца по показателям Эхо-КГ свидетельствуют о значительных нарушениях внутрисердечной гемодинамики у больных до операции.

При сравнении диастолической функции между исследуемыми группами у больных ИБС, имевших в анамнезе ИМ, установлены высокие значения по показателю IVRT ( $p = 0,051$ ), в то время как PVS оказался ниже ( $p = 0,002$ ).

При анализе диастолической дисфункции в группах показано, что наиболее частым типом диастолических нарушений в анамнезе была нарушенная релаксация (ригидный тип), которую зарегистрировали у 24 (80%)

пациентов без ИМ и 23 (52,2%;  $p = 0,017$ ) больных с ИМ. Псевдонормальный тип нарушения диастолической дисфункции среди пациентов без постинфарктного кардиосклероза выявлен в 6 (20%) случаях, в то время как у больных с ИМ в анамнезе — в 21 (47,7%;  $p = 0,018$ ).

В зависимости от степени тяжести диастолических нарушений проанализированы изменения диастолической функции у больных в течение 1 года после АКШ (табл. 3).

В группе больных с ригидным типом диастолической дисфункции произошло улучшение по отдельным показателям. Так, снизился показатель, напрямую связанный с клеточной релаксацией миокарда (IVRT;  $p = 0,046$ ), при этом увеличилось отношение E/A ( $p < 0,001$ ) за счет уменьшения компонента A ( $p = 0,003$ ), что указывает на улучшение активного расслабления реvascularизованного миокарда. Изменение показателей легочного венозного спектра сопровождалось улучшением активной (снижение PVD;  $p = 0,051$ ) и пассивной релаксации ЛЖ (снижение регургитации во время систолы предсердий, PVA;  $p = 0,028$ ). Таким образом, у пациентов, не имевших ИМ в анамнезе, с ригидным типом диастолической дисфункции миокарда в течение первого года после АКШ процессы активной и пассивной релаксации ЛЖ улучшаются и являются обратимыми.

В подгруппе больных с псевдонормальным типом изменения спектральных показателей левого желудочка оказались незначительными.

Динамика показателей диастолической функции у больных, имевших в анамнезе ИМ, также показала наличие положительных изменений (табл. 4). Так, у пациентов с ригидным типом диастолической дисфункции через год после операции снизился показатель, напрямую связанный с клеточной релаксацией миокарда — IVRT ( $p = 0,040$ ), что указывает на улучшение активного расслабления реvascularизованного миокарда. Указанные изменения сопровождаются снижением жесткости миокарда, характеризующиеся уменьшением максимальной скорости трансмитральной волны A ( $p = 0,041$ ). Таким образом, в этой группе пациентов произошли процессы улучшения как активной, так и пассивной релаксации ЛЖ.

У пациентов с псевдонормальным типом к концу первого года после операции улучшилась функция расслабления предсердия (снижение PVS,  $p = 0,037$ ).

### Обсуждение

У больных ИБС угнетение процесса расслабления миокарда ЛЖ может быть наиболее ранним проявлением поражения, значительно опережающим развитие систолической дисфункции сердечной мышцы. Улуч-

Таблица 2. Показатели диастолической функции сердца у больных ишемической болезнью сердца и в группе сравнения

Показатель	Без ИМ (n=30), 1-я группа	С ИМ (n=44), 2-я группа	3 группа сравнения (n=30)	p
E, м/с	0,63±0,18	0,59±0,14	0,79±0,18	$_{1-2}=0,113; \mathbf{_{1-3}=0,001; \mathbf{_{2-3}<0,001}}$
A, м/с	0,65±0,17	0,66±0,11	0,57±0,14	$_{1-2}=0,768; \mathbf{_{1-3}=0,049; \mathbf{_{2-3}=0,003}}$
E/A, ед.	0,98±0,25	0,92±0,27	1,41±0,20	$_{1-2}=0,341; \mathbf{_{1-3}<0,001; \mathbf{_{2-3}<0,001}}$
DT, мс	204,90±59,58	207,21±38,57	153,42±23,09	$_{1-2}=0,841; \mathbf{_{1-3}<0,001; \mathbf{_{2-3}<0,001}}$
IVRT, мс	111,25±23,84	121,15±21,23	88,22±14,13	$_{1-2}=\mathbf{0,051}; \mathbf{_{1-3}<0,001; \mathbf{_{2-3}<0,001}}$
PVS, м/с	0,68±0,22	0,55±0,12	0,35±0,12	$_{1-2}=\mathbf{0,002}; \mathbf{_{1-3}<0,001; \mathbf{_{2-3}<0,001}}$
PVD, м/с	0,48±0,12	0,46±0,13	0,28±0,08	$_{1-2}=0,518; \mathbf{_{1-3}<0,001; \mathbf{_{2-3}<0,001}}$
PVS / PVD	1,45±0,50	1,28±0,37	1,35±0,09	$_{1-2}=0,095; \mathbf{_{1-3}=0,297; \mathbf{_{2-3}=0,314}}$
PVA, м/с	0,35±0,10	0,33±0,05	0,26±0,07	$_{1-2}=0,259; \mathbf{_{1-3}<0,001; \mathbf{_{2-3}=0,003}}$

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4: жирным шрифтом обозначены статистически значимые различия между сравниваемыми группами

**Таблица 3.** Динамика диастолической функции левого желудочка у больных ишемической болезнью сердца, не имевших в анамнезе инфаркт миокарда, после аорто-коронарного шунтирования (АКШ)

Показатель	Сроки	Ригидный тип (n =24)	Псевдонормальный тип (n =6)
E, м/с	До АКШ	0,55±0,17	0,70±0,17
	Через 1 год после АКШ	0,57±0,17	0,69±0,14
	p	0,686	0,914
A, м/с	До АКШ	<b>0,72±0,15</b>	0,73±0,21
	Через 1 год после АКШ	<b>0,59±0,14</b>	0,66±0,34
	p	<b>0,003</b>	0,677
E/A, ед.	До АКШ	<b>0,75±0,11</b>	0,99±0,19
	Через 1 год после АКШ	<b>0,96±0,22</b>	1,03±0,19
	p	<b>&lt;0,001</b>	0,859
DT, мс	До АКШ	233,6±82,08	193,1±11,71
	Через 1 год после АКШ	213,9±87,29	189,6±25,89
	p	0,425	0,769
IVRT, мс	До АКШ	<b>130,8±22,34</b>	102,6±13,95
	Через 1 год после АКШ	<b>118,6±25,72</b>	92,1±5,93
	p	<b>0,046</b>	0,121
PVS, м/с	До АКШ	0,78±0,19	0,73±0,25
	Через 1 год после АКШ	0,73±0,21	0,61±0,26
	p	0,39	0,434
PVD, м/с	До АКШ	<b>0,50±0,11</b>	0,57±0,14
	Через 1 год после АКШ	<b>0,44±0,11</b>	0,47±0,14
	p	<b>0,051</b>	0,244
PVS/ PVD	До АКШ	1,59±0,38	1,40±0,71
	Через 1 год после АКШ	1,68±0,55	1,41±0,61
	p	0,513	0,977
PVA, м/с	До АКШ	<b>0,36±0,09</b>	0,36±0,01
	Через 1 год после АКШ	<b>0,29±0,03</b>	0,35±0,01
	p	<b>0,028</b>	0,11

200

**Таблица 4.** Динамика диастолической функции левого желудочка у больных ишемической болезнью сердца, имевших в анамнезе инфаркт миокарда, после аорто-коронарного шунтирования (АКШ)

Показатель	Сроки	Ригидный тип (n =23)	Псевдонормальный тип (n =21)
E, м/с	До АКШ	0,52±0,09	0,68±0,14
	Через 1 год после АКШ	0,51±0,12	0,63±0,12
	p	0,751	0,221
A, м/с	До АКШ	<b>0,67±0,09</b>	0,65±0,11
	Через 1 год после АКШ	<b>0,62±0,07</b>	0,62±0,11
	p	<b>0,041</b>	0,382
E/A (ед.)	До АКШ	0,79±0,21	1,06±0,29
	Через 1 год после АКШ	0,82±0,22	1,03±0,29
	p	0,639	0,739
DT, мс	До АКШ	214,1±32,64	198,8±43,42
	Через 1 год после АКШ	204,1±40,06	195,8±59,31
	p	0,358	0,853
IVRT, мс	До АКШ	<b>126,3±21,31</b>	115,2±20,06
	Через 1 год после АКШ	<b>113,6±19,54</b>	108,3±19,41
	p	<b>0,040</b>	0,264
PVS, м/с	До АКШ	0,55±0,13	<b>0,56±0,10</b>
	Через 1 год после АКШ	0,53±0,15	<b>0,49±0,11</b>
	p	0,339	<b>0,037</b>
PVD, м/с	До АКШ	0,42±0,12	0,51±0,14
	Через 1 год после АКШ	0,40±0,09	0,47±0,13
	p	0,526	0,343
PVS/ PVD	До АКШ	1,37±0,34	1,18±0,38
	Через 1 год после АКШ	1,39±0,44	1,18±0,37
	p	0,864	0,999
PVA, м/с	До АКШ	0,31±0,04	0,36±0,05
	Через 1 год после АКШ	0,30±0,03	0,34±0,05
	p	0,343	0,202

шение диастолического наполнения после оперативного лечения доказано в научных исследованиях [8, 9]. В нашем наблюдении показано, что еще до операции нарушение диастолической функции ЛЖ имело место у 19 (63,4%) больных без ИМ в анамнезе и в 100% случаев у больных с постинфарктным кардиосклерозом. При последующем наблюдении в течение 12 мес после аортокоронарного шунтирования у пациентов не зафиксирована смертность. Операцию реваскуляризации можно считать эффективной, поскольку в течение 1 года после нее возобновление приступов стенокардии было зафиксировано только у 1 (0,7%) пациента из всех наблюдаемых, что сопоставимо с данными других исследователей [10, 11].

При сравнении показателей диастолической функции между группами больных в зависимости от наличия ИМ в анамнезе были обнаружены статистически значимые высокие значения IVRT у больных, перенесших ИМ в анамнезе, в то время как PVS и PVS/PVD оказались ниже. Увеличение показателя IVRT указывает на замедление энергозависимой клеточной релаксации ЛЖ. Снижение показателей PVS и PVS/PVD характеризует ухудшение расслабления не только ЛЖ, но и левого предсердия [12, 13].

Логично предположить улучшение диастолической функции после реваскуляризации миокарда, поскольку операция позволяет устранить пусковой механизм развития диастолической дисфункции — ишемию миокарда, что также показано в ряде работ [14, 15].

Таким образом, у пациентов без ИМ в анамнезе, имевших осложнения в виде нарушений диастолической функции миокарда по ригидному типу, процесс реабилитации в течение первого года после АКШ происходит быстрее, чем у больных с псевдонормальным типом, что также показано в других исследованиях [16, 17].

### Заключение

Аортокоронарное шунтирование сопровождается улучшением диастолической функции левого желудочка, что может косвенно служить дополнительным критерием оценки адекватности проведения данной операции. У пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца с ригидным типом диастолической дисфункции, как у перенесших инфаркт миокарда, так и без него, улучшаются параметры активной и пассивной релаксации левого желудочка. У всех пациентов с псевдонормальным типом диастолической дисфункции улучшается только податливость левого желудочка.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

- Бузиашвили Ю.И., Сигаев И.Ю., Ханашвили Е.М., Кокшенева И.В., Арипов М.А., Мацкеплишвили С.Т., Ушерзон М.Б., Тугеева Э.Ф. Оценка диастолической дисфункции левого желудочка у больных ИБС до и после операции аортокоронарного шунтирования. *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия*. 2001; 4: 30–35.
- Алексеева О.А., Алёхин М.Н., Сидоренко Б.А. Возможности доплерографии в оценке функционального состояния сердца у больных артериальной гипертензией с нарушением диастолической функции сердца. *Кардиология*. 2009; 9: 39–43.
- Новиков В.И., Новикова Т.Н., Кузьмина-Крутецкая С.Р., Ироносос В.Е. Оценка диастолической функции сердца и ее роль в развитии сердечной недостаточности. *Кардиология*. 2001; 2: 78–85.
- Драпкина О.М., Ашихмин Я.И. Хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса: патофизиология, диагностика, стратегия лечения. *Кардиология*. 2009; 9: 90–95.
- Жаринов О.И., Антоненко Л.Н. Нарушение расслабления миокарда: патогенез и клиническое значение. *Кардиология*. 1995; 4: 57–60.
- Шалаев С.В. Показания и подготовка больного хронической стенокардией к предстоящей реваскуляризации. *Сердце*. 2005; 1: 42–44.
- Бурдули М.Н. Влияние операции прямой реваскуляризации миокарда на диастолическую функцию левого желудочка у больных ИБС. *Клиническая медицина*. 2001; 7: 35–39.
- Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю. Динамика диастолического наполнения и диастолического резерва левого желудочка у больных с хронической сердечной недостаточностью при применении различных типов медикаментозного лечения: сравнительное доплероэхокардиографическое исследование. *Кардиология*. 1996; 9: 38–50.
- Чернявский А.М., Марченко А.В., Кливер Е.Н., Доронин Д.В., Антропова Т.В., Колета Н.В., Волокитина Т.Л., Прохорова Д.С., Чармадов М.В., Эфендиев В.У. Сравнительный анализ выживаемости пациентов с ИБС и выраженной систолической дисфункцией левого желудочка после хирургического и медикаментозного лечения. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2009; 1: 65–69.
- Галаявич А.С. Диагностика и лечение хронической сердечной недостаточности сегодня. *Русский медицинский журнал*. 2014; 12: 867–873.
- Kadoi Y., Kawahara F., Fujita N. Diastolic function in patients with coronary artery disease before and after CABG. *Masui*. 1997; 1: 1316–1320.
- Хамуев Я.П. Проблемы диастолической дисфункции левого желудочка: определение, патофизиология, диагностика. *Кардиология*. 2011; 11: 71–82.
- Штегман О.А., Терещенко Ю.А. Систолическая и диастолическая дисфункции левого желудочка — самостоятельные типы сердечной недостаточности или две стороны одного процесса? *Кардиология*. 2004; 2: 82–86.
- Пешева О.В., Полтавская М.Г., Гиверц И.Ю., Дикур О.Н., Седов В.П., Сыркин А.Л. Проблемы диагностики и эпидемиология хронической сердечной недостаточности. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2014; 4: 75–83.
- Терещенко С.Н., Демидова И.В., Александрия Л.Г. Диастолическая дисфункция левого желудочка и ее роль в развитии хронической сердечной недостаточности. *Сердечная недостаточность*. 2000; 1: 61–66.
- Кузьмина-Крутецкая С.Р. Нарушение диастолической функции левого желудочка у больных некоторыми формами хронической ишемической болезни сердца. *Автореф. дис... канд. мед. наук. СПб*. 2001. 22 с.
- Шевченко Ю.Л., Бобров Л.А., Обрезан А.Г. Некоторые гемодинамические эффекты коррекции ишемии миокарда методом хирургической реваскуляризации. *Кардиология*. 2001; 7: 20–23.



#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

*Хлопина Инна Анатольевна*, кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой пропедевтики внутренних болезней СГМУ

**Адрес:** 163061, Архангельск, Троицкий пр-т, д. 51, **тел.:** +7 (8182) 62-60-35, **e-mail:** hlopina@yandex.ru

*Шацова Елена Николаевна*, доктор медицинских наук, профессор кафедры поликлинической терапии и сестринского дела СГМУ

**Адрес:** 163061, Архангельск, Троицкий пр-т, д. 51, **тел.:** +7 (8182) 28-57-56, **e-mail:** hlopina@yandex.ru

*Луначев Валерий Валентинович*, доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней СГМУ, профессор Института комплексной безопасности САФУ им. М.В. Ломоносова

**Адрес:** 163061, Архангельск, Троицкий пр-т, д. 51, **тел.:** +7 (8182) 62-60-35, **e-mail:** valerii-lvv@mail.ru

*Плакуев Александр Николаевич*, кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней СГМУ

**Адрес:** 163061, Архангельск, Троицкий пр-т, д. 51, **тел.:** +7 (8182) 62-60-35, **e-mail:** plakuev@rambler.ru

*Чернозёмова Анастасия Валерьевна*, кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по поликлинической работе 1-й ГКБ им. Е.Е. Волосевич

**Адрес:** 163061, Архангельск, ул. Гайдара, д. 3, **тел.:** +7 (8182) 62-60-35, **e-mail:** hlopina@yandex.ru

*Кубасов Роман Викторович*, кандидат биологических наук, доцент кафедры мобилизационной подготовки здравоохранения и медицины катастроф СГМУ

**Адрес:** 163061, Архангельск, Троицкий пр-т, д. 51, **тел.:** +7 (8182) 24-22-65, **e-mail:** roman2001@gmail.com

DOI:10.15690/vramn.v70i2.1314

Г.В. Вольнец<sup>1</sup>, Н.Н. Евлюхина<sup>1</sup>, А.В. Филин<sup>2</sup>, А.С. Потапов<sup>1</sup>, И.В. Дворяковский<sup>1</sup>, Г.М. Дворяковская<sup>1</sup>,  
А.Н. Сурков<sup>1</sup>, А.А. Шавров<sup>3</sup>, Н.Л. Пахомовская<sup>1</sup>, Т.А. Скворцова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> РНЦ хирургии им. акад. Б.В. Петровского, Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> НИИ неотложной детской хирургии и травматологии, Москва, Российская Федерация

# Структура и функция печени и их нарушения при хронических болезнях гепатобилиарной системы у детей

**Цель исследования:** установить влияние нарушений структуры печени на степень расстройств функции и динамику их изменений при хронических болезнях печени у детей. **Методы:** с помощью разработанных балльных систем произведена оценка степени нарушения структуры и функции печени, а также выраженности портальной гипертензии. **Результаты:** проанализированы результаты диагностических методов исследования 252 детей в возрасте от 1 до 17 лет (средний возраст 11,8±3,5 года) с болезнью Вильсона (БВ), аутоиммунным гепатитом (АИГ), хроническим гепатитом С (ХГС); из них 48 пациентам проведена трансплантация печени. У детей с БВ, АИГ и ХГС функция печени была снижена на 41,3±12,9, 28,8±12,5 и 19,1±7,8%, соответственно. Структура печени при БВ, АИГ и ХГС была нарушена на 25,0±8,1, 20,4±9,2 и 6,8±4,4%, соответственно. Нарушение структуры и функции печени более выражены при циррозе органа ( $p < 0,001$  при БВ, АИГ и ХГС). Продемонстрировано использование разработанных балльных систем для наблюдения за степенью поражения печени в динамике с оценкой эффективности лечения. Степень нарушения функции печени находится в прямой зависимости от степени нарушения ее структуры. Нарушение функции печени и ее структуры  $\geq 40\%$  при неэффективности терапии могут послужить критерием показаний к плановой трансплантации печени при ее хронических болезнях у детей. **Заключение:** разработанные балльные системы определения нарушения структуры и функции печени и выраженности портальной гипертензии у детей могут служить объективным критерием оценки степени тяжести поражения печени, наблюдения их изменений в динамике с оценкой эффективности проводимой терапии, определения прогноза заболевания и принятия решения о необходимости плановой трансплантации печени при ее хронических болезнях у детей.

**Ключевые слова:** дети, функция печени, структура печени, портальная гипертензия, трансплантация печени.

**(Для цитирования:** Г.В. Вольнец, Н.Н. Евлюхина, А.В. Филин, А.С. Потапов, И.В. Дворяковский, Г.М. Дворяковская, А.Н. Сурков, А.А. Шавров, Н.Л. Пахомовская, Т.А. Скворцова. Структура и функция печени и их нарушения при хронических болезнях гепатобилиарной системы у детей. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 203–213. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1314)

203

G.V. Volynets<sup>1</sup>, N.N. Evlyukhina<sup>1</sup>, A.V. Filin<sup>2</sup>, A.S. Potapov<sup>1</sup>, I.V. Dvoryakovskiy<sup>1</sup>, G.M. Dvoryakovskaya<sup>1</sup>,  
A.N. Surkov<sup>1</sup>, A.A. Shavrov<sup>3</sup>, N.L. Pakhomovskaya<sup>1</sup>, T.A. Skvortsova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Scientific Centre of Children Health, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Petrovsky Russian Research Centre of Surgery, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> Research Institute for Emergency Pediatric Surgery and Traumatology, Moscow, Russian Federation

## The Relationship of the Degree of Impairment of the Structure and Function of the Liver with its Chronic Illnesses in Children

**Objective:** Our aim was to on the basis of determining the degree of violation of the structure and function of the liver establish their relationships and to assess the dynamics of liver disease in its chronic illnesses in children. **Methods:** With the help of the developed scoring systems were used to assess the degree of liver dysfunction and the degree of disruption of the structure of the liver and the severity of portal hypertension. **Results:** The results of the diagnostic methods 252 children aged 1 to 17 years (mean age of 11.8±3.5) with Wilson disease (WD), autoimmune hepatitis (AIH), chronic hepatitis C (CHC) were analyzed; 48 patients underwent liver transplantation. In children with WD, AIH and CHC liver function reduced by 41.3±12.9% to 28.8±12.5% and 19.1±7.8% respectively. Structure of the liver in children with WD, AIH and CHC was disturbed by 25.0±8.1% to 20.4±9.2% and 6.8±4.4% respectively. The function and structure violations of the liver more pronounced in liver cirrhosis. The use of the developed scoring systems to monitor the severity of liver damage in the dynamics and evaluation of the effectiveness of the therapy is demonstrated. The degree of liver dysfunction is directly dependent on the degree of its structure. Abnormal liver function  $\geq 40\%$  and  $\geq 40\%$  of its structure with treatment failure can be used as a criterion of indications for elective liver transplantation with its chronic diseases in children. **Conclusion:** Developed a point system to determine liver function and a point system to determine disruption of the structure of the liver and the severity of portal hypertension in children can serve as an objective criterion for assessing the severity of liver disease, monitoring their changes in the dynamics with the assessment of the effectiveness of the therapy and making decisions about the need for routine liver transplantation in its chronic illnesses in children.

**Key words:** children, liver function, structure of the liver, portal hypertension, liver transplantation.

**(For citation:** G.V. Volynets, N.N. Evlyukhina, A.V. Filin, A.S. Potapov, I.V. Dvoryakovskiy, G.M. Dvoryakovskaya, A.N. Surkov, A.A. Shavrov, N.L. Pakhomovskaya, T.A. Skvortsova. The Relationship of the Degree of Impairment of the Structure and Function of the Liver with its Chronic Illnesses in Children. *Vestnik Rossijskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 203–213. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1314)

## Обоснование

Одной из важнейших проблем современной детской гепатологии является разработка системы определения степени нарушения функции и структуры печени и выраженности портальной гипертензии для определения прогноза заболевания, выбора тактики лечения и установления показаний и сроков проведения трансплантации печени у детей. Шкала Child-Trucotte-Pugh (СТР) включает как показатели, имеющие строгие числовые значения, так и показатели, выраженность которых сложно оценить объективно и стандартизированно (энцефалопатия и асцит) [1, 2]. В 2000 и 2002 гг. были предложены современные шкалы MELD (Model of End-Stage Liver Disease) и PELD (Pediatric End-Stage Liver Disease), которые валидизированы для использования у детей (шкала PELD используется у детей от рождения до 12 лет, а шкала MELD — у детей старше 12 лет и взрослых) и позволяют проводить более тонкую градацию тяжести цирроза печени (ЦП) у детей (балльную, в сравнении с определением классов по СТР) [3–5]. В этих шкалах при расчетах используются только объективные стандартизированные показатели (уровень билирубина, альбумина, значение международного нормализованного отношения, МНО, протромбинового времени), возраст пациента, наличие задержки физического развития ребенка, учитывается наличие декомпенсации функции почек и необходимость в гемодиализе [5, 6]. Однако шкалы MELD / PELD не отражают степень нарушения структуры и функции печени и выраженность портальной гипертензии на том или ином этапе развития заболевания и применяются лишь для прогнозирования краткосрочной выживаемости пациента ( $\geq 20$  баллов — плохой прогноз трехмесячной выживаемости,  $\leq 20$  баллов — хороший прогноз трехмесячной выживаемости) для определения срочности проведения трансплантации печени [4–6].

Международная классификация функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья (МКФ), принятая экспертами Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2001 г., и Международная классификация функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья детей и подростков (МКФ-ДП), утвержденная в 2007 г., которые были объединены на совещании Functioning and Disability Reference Group (ВОЗ, Мадрид, 2010), а объединение их было одобрено Family of International Classifications (ВОЗ, Торонто, 2010), выделяют структуры организма — его анатомические части (такие как органы, конечности и их составляющие), и функции организма — физиологические функции систем организма. При этом нарушениями считаются проблемы, возникающие в структурах или функциях, таких как существенное отклонение или утрата [7, 8].

Обсуждается вопрос о наличии взаимосвязи между различными клинико-лабораторными и морфологическими показателями, отражающими степень выраженности нарушений структуры и функции печени [9–11]. На базе Научного центра здоровья детей (Москва) разработана балльная система оценки степени тяжести нарушения функции печени на основе МКФ у детей (патент РФ № 2473904) путем определения биохимических показателей крови, отражающих роль печени в обмене белков, жиров, углеводов [12], а также балльная система оценки степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии у детей [13]. Однако сравнительного анализа влияния нарушений структуры печени на степень нарушения ее функции не проводилось. Это позволило бы установить, какие патологические процессы

в ткани печени наиболее значимо влияют на нарушение ее функции, более объективно оценивать тяжесть патологического процесса, течение заболевания в динамике на фоне лечения с оценкой его эффективности, влиять на решение вопроса о необходимости проведения и сроках трансплантации печени у детей.

Целью нашего исследования было установить влияние нарушений структуры печени на степень нарушения ее функции и динамику их изменений при хронических болезнях печени у детей.

## Методы

### План исследования

Проведено ретроспективное сплошное неконтролируемое исследование.

### Критерии соответствия

В исследование включали пациентов в возрасте от 1 года до 17 лет с диагнозом «Аутоиммунный гепатит», установленным согласно рекомендациям American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) [14]; болезнью Вильсона, диагностированной согласно рекомендациям European Association for Study of Liver (EASL) [15] и хроническим гепатитом С (также согласно рекомендациям (EASL) [16]. В исследование не включали пациентов, у которых болезнь печени была обусловлена патологией других органов и систем.

### Условия проведения

Анализировали результаты обследования и лечения детей, поступивших в гастроэнтерологическое отделение с гепатологической группой Научного центра здоровья детей и в отделение пересадки печени Российского научного центра хирургии им. акад. Б.В. Петровского (Москва) в период с 2005 по 2014 гг.

### Оцениваемые результаты

Определение степени нарушения функции печени осуществляли по балльной системе, разработанной и запатентованной в гастроэнтерологическом отделении с гепатологической группой Научного центра здоровья детей, согласно которой каждый биохимический показатель, отражающий роль печени в обмене белков, жиров или углеводов (альбумин, аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза, общий билирубин, холестерин, глюкоза, лактат, аммиак, мочевины, трансферрин, церулоплазмин, протромбин по Квику, фибриноген), оценивается по пятибалльной шкале. При отсутствии изменений дают оценку 4 балла, при незначительных изменениях — 3 балла, при умеренно выраженных изменениях — 2 балла, при тяжелых изменениях — 1 балл, при абсолютных изменениях — 0 баллов. Сумма баллов, набранных при оценке биохимических показателей, служит оценкой степени нарушения функции печени. При отсутствии нарушений функции печени (снижение функции на 0–4%) суммарное число набранных баллов равно 54–56, при незначительных нарушениях (снижение функции на 5–24%) — 43–53 баллам, при умеренных нарушениях (снижение функции на 25–49%) — 29–42 баллам, при тяжелых нарушениях (снижение функции на 50–95%) — 3–28 баллам, при абсолютных нарушениях (снижение функции на 96–100%) — 0–2 баллам (табл. 1) [12].

Для оценки степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии проводили лучевые методы визуализации: УЗИ с определением диаметра

Таблица 1. Балльная система оценки степени нарушения функции печени у детей

Показатели	Единицы измерения	Отсутствие нарушений (снижение функции на 0–4%)	БАЛЛЫ	Незначительные нарушения (снижение функции на 5–24%)	БАЛЛЫ	Умеренные нарушения (снижение функции на 25–49%)	БАЛЛЫ	Тяжелые нарушения (снижение функции на 50–95%)	БАЛЛЫ	Абсолютные нарушения (снижение функции на 95–100%)	БАЛЛЫ
Глюкоза натощак	ммоль/л	≥4,48	4	3,58–4,47	3	2,40–3,57	2	1,45–2,39	1	≤1,44	0
Лактат	мЭкв/л	≤1,56	4	1,57–1,86	3	1,87–2,24	2	2,25–2,93	1	≥2,94	0
Альбумин	г/л	≥42,3	4	37,1–42,2	3	31,9–37,0	2	26,7–31,8	1	≤26,6	0
Церулоплазмин	мг/дл	≥20	4	16,7–19	3	13,3–16,6	2	10,0–13,2	1	≤9,9	0
Фибриноген	г/л	≥3,04	4	2,50–3,03	3	1,98–2,49	2	1,45–1,97	1	≤1,44	0
Протромбин по Квику	%	≥95,7	4	90,7–95,6	3	58,5–90,6	2	26,4–58,4	1	≤26,3	0
Трансферрин	мг/дл	≥244	4	202–243	3	176–201	2	150–175	1	≤149	0
АЛТ	МЕ/л	≤17,2	4	17,3–83,9	3	84,0–150,6	2	150,7–217,3	1	≥217,4	0
АСТ	МЕ/л	≤28,6	4	28,7–112,3	3	112,4–196,0	2	196,1–279,7	1	≥279,8	0
Коэффициент де Ритиса	АСТ/АЛТ	1,73–1,83	4	1,31–1,72 или 1,84–2,27	3	0,88–1,30 или 2,28–2,73	2	0,09–0,87 или 2,74–3,57	1	≤0,08 или ≥3,58	0
Аммиак (ионы аммония)	мЭкв/л	≤32,0	4	32,1–39,7	3	39,8–47,7	2	47,8–62,4	1	≥62,5	0
Мочевина	ммоль/л	≥3,7	4	3,2–3,6	3	2,7–3,1	2	2,2–2,6	1	≤2,1	0
Билирубин общий	мкмоль/л	≤14,0	4	14,1–76,5	3	76,6–139,9	2	140,0–201,9	1	≥202,0	0
Холестерин	ммоль/л	≥4,0	4	3,3–3,9	3	2,7–3,2	2	2,0–2,6	1	≤1,9	0
Максимально возможное число баллов							56				

Примечание. Суммарное число баллов служит оценкой степени выраженности нарушений функции печени: отсутствие нарушений функции печени (снижение функции на 0–4%) — 54–56 баллов; незначительные нарушения функции печени (снижение функции на 5–24%) — 43–53 балла; умеренные нарушения функции печени (снижение функции на 25–49%) — 29–42 балла; тяжелые нарушения функции печени (снижение функции на 50–95%) — 3–28 баллов; абсолютные нарушения функции печени (снижение функции на 96–100%) — 0–2 балла.

воротной вены, диаметра селезеночной вены, размера селезенки, наличия реканализации пупочной вены, асцита, гидроторакса, гидроперикарда. При этом увеличение диаметра воротной и селезеночной вены оценивали в % от максимально допустимой нормы [13, 17]. Размер селезенки оценивали по ее длине, а увеличение ее размера — в % от максимально допустимой нормы длины [13, 17]. Определение степени выраженности фиброза печени и наличие ЦП осуществляли при проведении не прямой ультразвуковой фиброэластометрии печени [18, 19]. Показатели эластичности печени (кПа) сопоставлены в соответствии с международными рекомендациями со стадиями фиброза по шкале Metavir [20]. При проведении многофакторного анализа для определения наиболее значимых показателей нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии из данных морфологического исследования был выделен показатель фиброза, который оценивался по методу R.G. Knodell в модификации V. Desmet и соавт. [13, 21, 22]. При этом степень фиброза оценивали в зависимости от его выраженности по четырехбалльной шкале.

Наличие варикозного расширения вен пищевода и степень его выраженности оценивали при проведении фиброэзофагогастродуоденоскопии (ФЭГДС) согласно классификации А.А. Шаврова [23].

По балльной системе оценки степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии оценивали 10 показателей [13]:

- показатели, отражающие выраженность фиброза и наличие цирроза печени — оценка по шкале Metavir

при фиброэластометрии, оценка по шкале Desmet при морфологическом исследовании печени;

- показатели, отражающие выраженность портальной гипертензии — диаметр воротной вены, диаметр селезеночной вены, длина селезенки, реканализация пупочной вены, варикозное расширение вен пищевода, асцит, гидроперикард, гидроторакс.

При этом каждый из перечисленных показателей, полученный при обследовании детей, не имеющих болезней печени, интерпретировали как «отсутствие нарушений» и оценивали в 4 балла; показатели, полученные при обследовании детей, которым проводилась трансплантация печени по экстренным показаниям (≥20 баллов по шкале MELD / PELD), интерпретировали как «абсолютные нарушения» и оценивали в 0 баллов. В 2 балла оценивали показатели, составляющие 50% от показателей, соответствующих абсолютным нарушениям. Показатели, находящиеся в диапазоне между «отсутствием нарушений» и «умеренными нарушениями» расценивали как «незначительные нарушения» и оценивали в 3 балла. Показатели, находящиеся в диапазоне между «умеренными нарушениями» и «абсолютными нарушениями», интерпретировали как «тяжелые нарушения» и оценивали в 1 балл [13].

Увеличение диаметра воротной вены и селезеночной вены на 0–4% от максимально допустимой нормы [13, 17] оценивали в 4 балла, на 5–24% — в 3 балла, на 25–49% — в 2 балла, на 50–95% — в 1 балл, на ≥96% — в 0 баллов [13].

Такие показатели, как отсутствие реканализации пупочной вены, асцита, гидроторакса и гидроперикарда оценивали в 4 балла, а их наличие — в 0 баллов [13].



Суммарное число набранных баллов отражает степень нарушения структуры печени и выраженность портальной гипертензии при ее хронических болезнях у детей. При отсутствии нарушений структуры печени и выраженности портальной гипертензии (нарушение на 0–4%) суммарное число набранных баллов равно 38–40; при незначительных нарушениях (нарушение структуры на 5–24%) — 30–37 при умеренных нарушениях (нарушение структуры на 25–49%) — 20–29; при тяжелых нарушениях (нарушение структуры на 50–95%) — 3–19; при абсолютных нарушениях (нарушение структуры на 96–100%) — 0–2 (табл. 2).

**Анализ в подгруппах**

Для решения задач исследования данные детей, включенных в него, анализировали в следующих подгруппах (табл. 3).

**Этическая экспертиза**

Исследование было одобрено независимым Локальным этическим комитетом Научного центра здоровья детей. Все родители пациентов, участвовавших в исследовании, подписали информированное согласие на обработку персональных данных.

**Статистический анализ**

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы SPSS 16.0 (SPSS Inc., США). При описании качественных и порядковых признаков проводили анализ абсолютных и относительных частот признака в группе; полученный результат выражали в % от общего числа значений. Для сравнения двух независимых групп количественных данных применяли критерий Манна-Уитни. Количественные данные выражали в виде среднего (M) ± стандартное отклонение (SD). Корреляционный

**Таблица 2.** Балльная система оценки степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии

Показатели	Отсутствие нарушений (нарушение структуры на 0–4%)	БАЛЛЫ	Незначительные нарушения (нарушение структуры на 5–24%)	БАЛЛЫ	Умеренные нарушения (нарушение структуры на 25–49%)	БАЛЛЫ	Тяжелые нарушения (нарушение структуры на 50–95%)	БАЛЛЫ	Абсолютные нарушения (нарушение структуры на 96–100%)	БАЛЛЫ
	Диаметр воротной вены, % от максимально допустимой нормы	≤101,8	4	101,9–111,2	3	111,3–122,4	2	122,5–142,8	1	≥142,9
Диаметр селезеночной вены, % от максимально допустимой нормы	≤105,6	4	105,7–121,7	3	121,8–145,4	2	143,5–182,6	1	≥182,7	0
Размер селезенки (длина), % от максимально допустимой нормы	≤101,2	4	101,3–107,3	3	107,4–114,8	2	114,9–128,2	1	≥128,3	0
Варикозное расширение вен пищевода, степень выраженности	0	4	1	3	2	2	3	1	4	0
Выраженность фиброза печени (морфологические данные), баллы по шкале Desmet	0	4	1	3	2	2	3	1	4	0
Выраженность фиброза печени (фиброэластометрия), баллы по шкале Metavir	0	4	1	3	2	2	3	1	4	0
Реканализация пупочной вены	Нет	4	-	1	Есть	0	-	-	-	-
Асцит	Нет	4	-	1	Есть	0	-	-	-	-
Гидроторакс	Нет	4	-	1	Есть	0	-	-	-	-
Гидроперикард	Нет	4	-	1	Есть	0	-	-	-	-
Максимально возможное число баллов	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Примечание.* Суммарная цифра баллов служит оценкой степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии: отсутствие нарушений структуры печени и выраженности портальной гипертензии (нарушение структуры на 0–4%) — 38–40 баллов; незначительные нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии (нарушение структуры на 5–24%) — 30–37 баллов; умеренные нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии (нарушение структуры на 25–49%) — 20–29 баллов; тяжелые нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии (нарушение структуры на 50–95%) — 3–19 баллов; абсолютные нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии (нарушение структуры на 96–100%) — 0–2 балла.

**Таблица 3.** Общая характеристика детей, данные которых были проанализированы в исследовании

Заболевание	Наличие цирроза печени	n (%)	Возраст, годы	Пол
Болезнь Вильсона	Нет	58 (23,0)	11,8±3,1	М — 56,9%, д — 43,1%
	Есть	59 (23,4)	13,6±2,2	М — 37,3%, д — 62,7%
Аутоиммунный гепатит	Нет	22 (8,7)	10,1±2,6	М — 31,8%, д — 68,2%
	Есть	50 (19,8)	10,9±3,9	М — 37,3%, д — 62,7%
Хронический гепатит С	Нет	60 (23,8)	8,0±4,2	М — 48,3%, д — 51,7%
	Есть	3 (1,2)	11,5±1,5	М — 66,7%, д — 33,3%

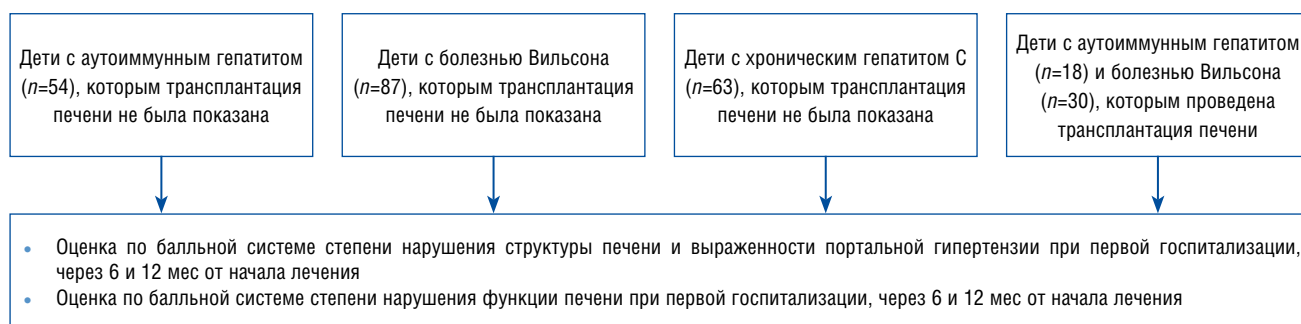


Рис. 1. Схема исследования

анализ выполняли путем расчета коэффициента непараметрической (ранговой) корреляции Спирмена (R). Корреляционная связь при коэффициенте корреляции до 0,5 расценивалась как низкая, 0,5–0,7 — как умеренная, 0,7–0,9 — как сильная. С целью определения диагностической значимости в определении показаний к трансплантации печени был проведен ROC-анализ балльных шкал. Расчет длительности наблюдения детей до момента проведения трансплантации печени проводили по методу Каплана–Мейера. Критический уровень статистической значимости гипотез принимали равным 0,05.

## Результаты

### Участники исследования

Общая схема результатов обследования и лечения детей, данные которых включены в исследование, представлены на рис. 1.

Проведен ретроспективный анализ историй болезни 252 пациентов (сплошное исследование): 120 (47,6%) мальчиков и 132 (52,4%) девочек в возрасте от 1 года до 17 лет (средний возраст  $11,8 \pm 3,5$  года), находившихся на лечении в гастроэнтерологическом отделении с гепатологической группой Научного центра здоровья детей, а также детей, находившихся на лечении в отделении пересадки печени Российского научного центра хирургии им. акад. Б.В. Петровского в период 2005–2014 гг. Из них 117 (46,4%) пациентов — с болезнью Вильсона, 72 (28,6%) — с аутоиммунным гепатитом, 63 (25,0%) — с

хроническим гепатитом С. Из этих детей 48 пациентам (средний возраст  $12,6 \pm 3,9$  года) с ЦП в исходе болезни Вильсона ( $n=30$ , 62,5%) и аутоиммунного гепатита ( $n=18$ , 37,5%) была проведена трансплантация печени. Результаты исследований этих пациентов были включены в статистический анализ.

### Основные результаты исследования

Показатели степени нарушения функции печени у детей с аутоиммунным гепатитом (рис. 2), болезнью Вильсона и хроническим гепатитом С представлены в табл. 4–6. Распространенность различных степеней нарушения функции печени при ее хронических болезнях у детей в динамике на фоне лечения представлена в табл. 7.

Анализ историй болезней 48 детей с аутоиммунным гепатитом ( $n=18$ ) и болезнью Вильсона ( $n=30$ ), которым была проведена трансплантация печени, показал, что степень нарушения функции печени у них составила  $47,2 \pm 13,6\%$ , что, согласно МКФ, в 48,8% случаев соответствовало умеренным нарушениям и в 51,2% — тяжелым ( $p < 0,001$  при сравнении с показателями у детей, которым трансплантация печени показана не была; рис. 3).

Показатели степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии у детей с аутоиммунным гепатитом, болезнью Вильсона и хроническим гепатитом С представлены в табл. 8–10. Динамика частоты встречаемости различных степеней нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии при хронической патологии печени у детей представлена в табл. 11.

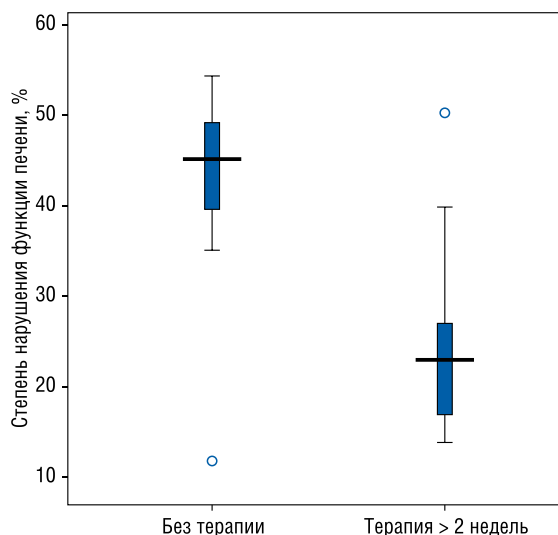


Рис. 2. Степень нарушения функции печени у детей с аутоиммунным гепатитом в зависимости от проведения иммуносупрессивной терапии на момент первой госпитализации ( $p=0,035$ ).

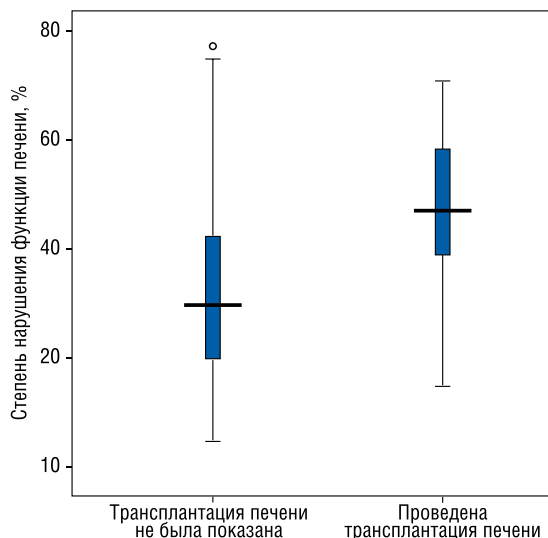


Рис. 3. Степень нарушения функции печени (в %) при ее хронических болезнях у детей в зависимости от наличия показаний к трансплантации печени по шкалам MELD / PELD ( $p < 0,001$ ).

Степень нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии у 48 детей, которым была проведена трансплантация органа (18 детей с аутоиммунным гепатитом и 30 детей с болезнью Вильсона), составила  $45,2 \pm 11,2\%$ , что, согласно МКФ, в 34,9% случаев соответствовало тяжелым нарушениям, в 58,1% — умеренным, в 7,0% — незначительным ( $p < 0,001$  при сравнении с показателями у детей, которым трансплантация печени не была показана; рис. 4).

При наиболее оптимальном соотношении чувствительности и специфичности, составляющих, соответственно, 72,2 и 64,4%, пороговое значение степени нарушения функции печени было  $\geq 40\%$ . Проведение ROC-анализа балльной системы определения степени нарушения функции печени у пациентов при первой госпитализации ( $n=252$ ), включая детей, которым впоследствии была проведена трансплантация печени ( $n=48$ ), показало, что она обладает умеренной значимостью в прогнозировании вероятности проведения пересадки органа ( $AUC = 0,776$ ; рис. 5).

При наиболее оптимальном соотношении чувствительности и специфичности, составляющих, соответственно, 72,2 и 94,4%, пороговое значение степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии было  $\geq 40\%$ . Проведение ROC-анализа балльной системы определения степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии у пациентов на момент первой госпитализации ( $n=252$ ), включая детей, которым впоследствии была проведена трансплантация печени ( $n=48$ ), показало, что она обладает высокой значимостью в прогнозировании вероятности проведения трансплантации печени ( $AUC=0,927$ ; рис. 6).

При проведении корреляционного анализа степени нарушения функции и степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии при ее хронических болезнях у детей определена средняя корреляция между этими показателями ( $R = 0,542$ ) при  $p < 0,001$  (рис. 7).

#### Дополнительные результаты исследования

С учетом того, что пациенты с декомпенсированным ЦП без проведения трансплантации имеют неблагоприятный прогноз, был проведен анализ прогноза выживаемости детей с болезнью Вильсона, аутоиммунным гепатитом и хроническим гепатитом С. Началом наблюдения считали момент дебюта заболевания, исходом — момент проведения трансплантации печени (рис. 8). Установлено, что однолетняя выживаемость у детей с болезнью Вильсона и аутоиммунным гепатитом с момента дебюта заболевания при отсутствии выполнения трансплантации печени составляет 92,0 и 97,0%, а пятилетняя — 79,0 и 80,0%, соответственно.

#### Обсуждение

При анализе степени нарушения функции печени у детей с болезнью Вильсона, которым трансплантация печени не была показана, было установлено, что при первой госпитализации преобладали умеренные и тяжелые нарушения (66,3 и 30,3%, соответственно). При этом у детей с ЦП в исходе болезни Вильсона степень нарушения функции была более выражена, чем у детей без цирроза ( $p < 0,001$ ). В динамике через 6 и 12 мес от начала лечения отмечено значимое улучшение функции печени у детей с ЦП ( $p=0,006$  и  $p < 0,001$ , соответственно) в отличие от

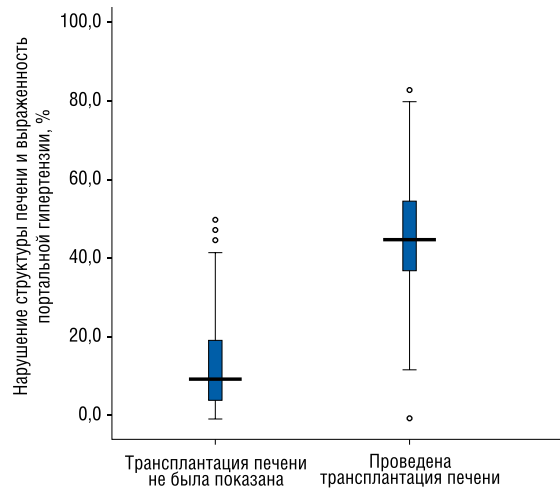


Рис. 4. Степень нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии (в %) у детей с хронической патологией печени в зависимости от наличия показаний к трансплантации органа ( $p < 0,001$ ).

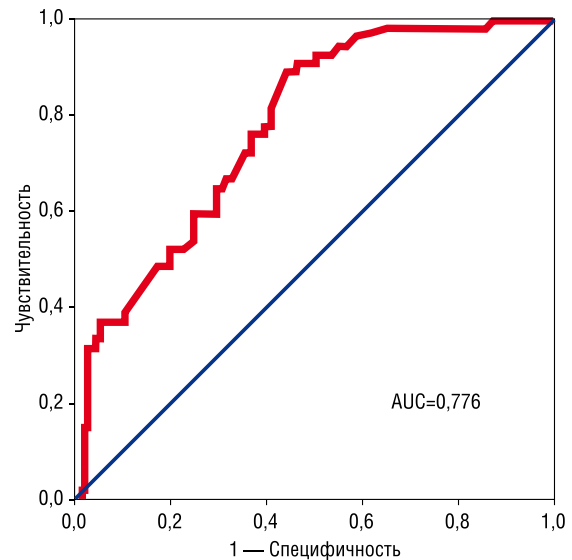


Рис. 5. Диагностическая значимость балльной системы оценки степени нарушения функции печени в оценке прогноза трансплантации печени у детей (ROC-анализ).

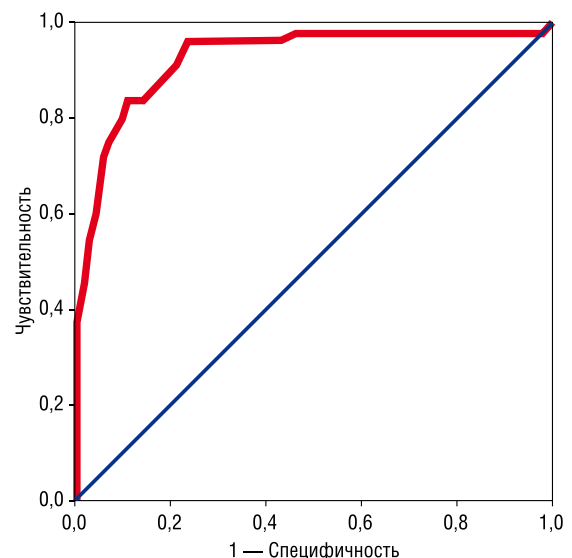


Рис. 6. Диагностическая значимость балльной системы оценки степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии в оценке прогноза трансплантации печени у детей (ROC-анализ).

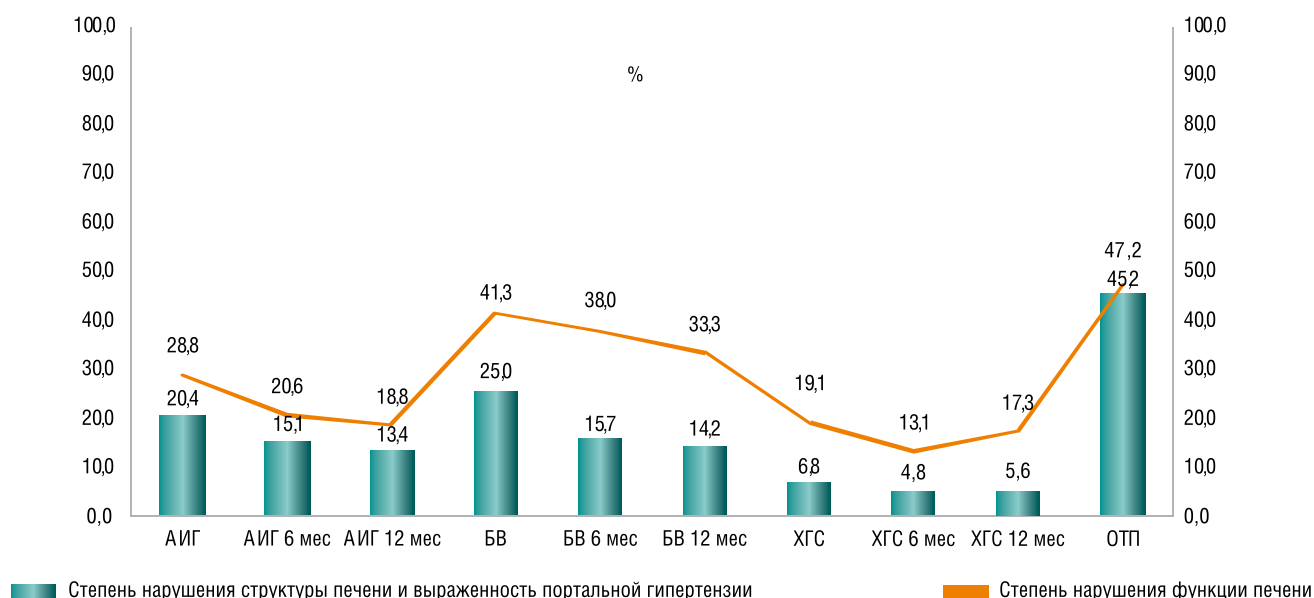


Рис. 7. Степень нарушения функции и структуры печени и выраженность портальной гипертензии (в %) и их изменения в динамике у детей с хроническими болезнями печени.

детей без цирроза ( $p=0,428$  и  $p=0,006$ , соответственно). Такая же динамика изменений степени нарушения функции печени прослеживалась и при аутоиммунном гепатите. Однако незначительные нарушения функции печени у этих пациентов встречались чаще (48%;  $p<0,001$ ). Это объясняется тем, что в 33,3% случаев на момент первой госпитализации дети получали патогенетическую (иммуносупрессивную) терапию (см. рис. 2), и нарушение функции печени у этих пациентов было менее выраженным ( $p=0,035$ ).

У детей с хроническим гепатитом С степень нарушения функции печени на момент первой госпитализации преимущественно соответствовала незначительным и умеренным нарушениям (75 и 25%, соответственно). При этом у детей с ЦП в исходе хронического гепатита С степень нарушения функции печени была более выражена, чем у детей без цирроза ( $p=0,004$ ), и соответствовала умеренным нарушениям. В динамике на фоне терапии через 6 и 12 мес степень нарушения функции печени у

детей с хроническим гепатитом С достоверно снизилась ( $p=0,015$  и  $p=0,012$ , соответственно). У детей с ЦП в исходе хронического гепатита С анализ динамики степени нарушения функции не был проведен в связи с малым числом пациентов.

При анализе степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии у детей с болезнью Вильсона, которым трансплантация печени не была показана, установлено, что при первой госпитализации преобладали незначительные и умеренные нарушения (68,9 и 27,5%, соответственно). При этом у детей с ЦП степень нарушения структуры была более выражена, чем у детей без цирроза ( $p<0,001$ ). В динамике через 6 и 12 мес от начала терапии преобладали уже незначительные нарушения (80 и 82,1%, соответственно). При этом положительная динамика степени нарушения структуры печени у детей с циррозом была более выражена ( $p=0,003$ ), чем у детей без ЦП ( $p=0,267$ ). Через 12 мес от начала лечения улучшение структуры печени и выраженности портальной гипертензии зарегистрировано только у детей с ЦП ( $p=0,011$ ). Такая же динамика изменений степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии прослеживалась и при аутоиммунном гепатите.

У детей с хроническим гепатитом С степень нарушения структуры печени и выраженность портальной гипертензии при первой госпитализации в 89% случаев была незначительной. При этом у детей с ЦП в исходе хронического гепатита С степень нарушения структуры была более выражена, чем у детей без цирроза печени, и соответствовала незначительным и умеренным нарушениям (83,3 и 16,7% соответственно). В динамике на фоне терапии (через 6 и 12 мес) степень нарушения структуры печени и выраженность портальной гипертензии существенно не менялась у детей без ЦП.

У детей с болезнью Вильсона и аутоиммунным гепатитом степень нарушения функции печени на момент первой госпитализации соответствовала преимущественно умеренным. У детей с хроническим гепатитом С степень нарушения функции печени при первой госпитализации соответствовала незначительным нарушениям. Степень нарушения функции и степень нарушения структуры печени и выраженность портальной гипертензии у детей

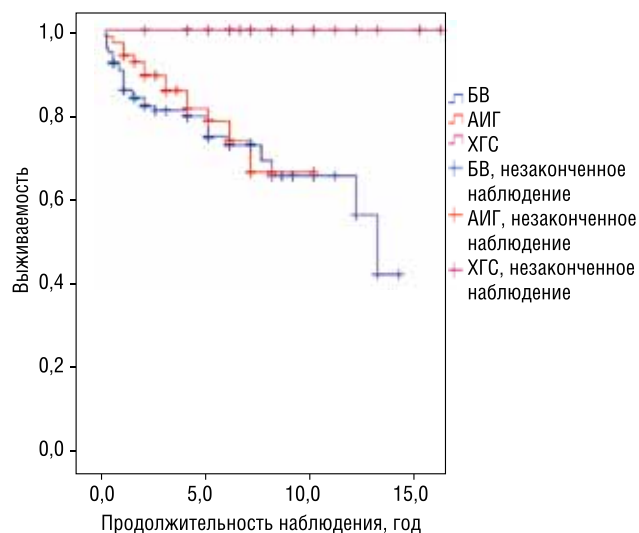


Рис. 8. Анализ прогноза выживаемости детей с болезнью Вильсона (БВ), аутоиммунным гепатитом (АИГ), хроническим гепатитом С (ХГС).



**Таблица 4.** Динамика степени нарушения функции печени (в %) у детей с болезнью Вильсона

Болезнь Вильсона	Первая госпитализация (n=87)	Через 6 мес (n=82)	Через 12 мес (n=75)
Цирроза нет	37,8±11,6	36,3±10,1	31,5±7,9
Цирроз печени	48,1±12,9*	40,9±8,1	35,4±8,8*
Все пациенты	41,3±12,9	38,0±9,6	33,3±8,4*

Примечание. \* —  $p < 0,001$ .

**Таблица 5.** Динамика степени нарушения функции печени (в %) у детей с аутоиммунным гепатитом

Аутоиммунный гепатит	Первая госпитализация (n=54)	Через 6 мес (n=46)	Через 12 мес (n=42)
Цирроза нет	21,9±8,9	18,1±7,0	18,7±8,1
Цирроз печени	33,3±12,6*	22,2±8,1*	18,9±10,1*
Все пациенты	28,8±12,5	20,6±7,9*	18,8±9,2*

Примечание. \* —  $p < 0,001$ .

**Таблица 6.** Динамика степени нарушения функции печени (в %) у детей с хроническим гепатитом С

Хронический гепатит С	Первая госпитализация (n=63)	Через 6 мес (n=45)	Через 12 мес (n=40)
Цирроза нет	17,0±7,7	13,1±7,8	17,3±5,9
Цирроз печени	26,0±7,4*	Нет данных	Нет данных
Все пациенты	19,1±7,8	13,1±7,8*	17,3±5,9

Примечание. \* —  $p < 0,001$ .

**Таблица 7.** Распространенность различных степеней нарушения функции печени (в %) при аутоиммунном гепатите, болезни Вильсона и хроническом гепатите С у детей

Степень нарушения структуры печени и выраженность портальной гипертензии	Первая госпитализация									
	Болезнь Вильсона (n=87)			Аутоиммунный гепатит (n=54)			Хронический гепатит С (n=93)			
	Вся группа	ЦП (n=29)	ЦП нет (n=58)	Вся группа	ЦП (n=33)	ЦП нет (n=21)	Вся группа	ЦП (n=6)	ЦП нет (n=87)	
0–4 (отсутствуют)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
5–24 (незначительные)	3,4	0,0	5,4	48,0	33,3	70,0	75,0	0,0	85,7	
25–49 (умеренные)	66,3	48,5	76,8	44,0	53,3	30,0	25,0	100,0	14,3	
50–95 (тяжелые)	30,3	51,5	17,9	8,0	13,3	0,0	0,0	0,0	0,0	
Через 6 мес от начала лечения										
0–4 (отсутствуют)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	26,7	Нет данных	23,1	
5–24 (незначительные)	12,5	0,0	20,0	64,3	61,5	68,8	66,7	Нет данных	69,2	
25–49 (умеренные)	66,7	66,7	66,7	35,7	38,5	31,2	6,7	Нет данных	7,7	
50–95 (тяжелые)	20,8	33,3	13,3	0,0	0,0	0,0	0,0	Нет данных	0,0	
Через 12 мес от начала лечения										
0–4 (отсутствуют)	0,0	0,0	0,0	2,6	0,0	6,7	0,0	Нет данных	0,0	
5–24 (незначительные)	13,3	28,6	0,0	68,4	69,6	66,7	100,0	Нет данных	100,0	
25–49 (умеренные)	73,3	42,9	100,0	21,1	26,1	13,3	0,0	Нет данных	0,0	
50–95 (тяжелые)	13,3	28,6	0,0	7,9	4,3	13,3	0,0	Нет данных	0,0	

Примечание. ЦП — цирроз печени

**Таблица 8.** Динамика степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии (в %) у детей с болезнью Вильсона

Болезнь Вильсона	Первая госпитализация (n=87)	Через 6 мес (n=82)	Через 12 мес (n=75)
Цирроза нет	10,5±4,0	10,5±2,0	10,0±1,5
Цирроз печени	32,7±9,2*	26,2±9,7	18,8±6,1
Все пациенты	25,0±8,1	15,7±9,3*	14,2±6,1

Примечание. \* —  $p < 0,001$ .

**Таблица 9.** Динамика степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии (в %) у детей с аутоиммунным гепатитом

Аутоиммунный гепатит	Первая госпитализация (n=54)	Через 6 мес (n=46)	Через 12 мес (n=42)
Цирроза нет	13,2±2,5	11,0±2,3	9,8±1,8
Цирроз печени	24,8±8,3*	16,9±6,9*	15,6±5,3
Все пациенты	20,4±9,2	15,1±5,0	13,4±5,2

Примечание. \* — p < 0,001

**Таблица 10.** Динамика степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии (в %) у детей с хроническим гепатитом С

Хронический гепатит С	Первая госпитализация (n=63)	Через 6 мес (n=45)	Через 12 мес (n=40)
Цирроза нет	5,7±2,2	4,8±1,5	5,6±3,2
Цирроз печени	19,2±14,1*	Нет данных	Нет данных
Все пациенты	6,8±4,4	4,8±1,5	5,6±3,2

Примечание. \* — p < 0,001

**Таблица 11.** Частота встречаемости различных степеней нарушений структуры печени и выраженности портальной гипертензии (в %) при аутоиммунном гепатите, болезни Вильсона и хроническом гепатите С у детей

Степень нарушения структуры печени и выраженность портальной гипертензии	Первая госпитализация								
	Болезнь Вильсона (n=87)			Аутоиммунный гепатит (n=54)			Хронический гепатит С (n=93)		
	Вся группа	ЦП (n=29)	ЦП нет (n=58)	Вся группа	ЦП (n=33)	ЦП нет (n=21)	Вся группа	ЦП (n=6)	ЦП нет (n=87)
0–4 (отсутствуют)	2,2	0,0	3,4	2,0	0,0	5,3	9,6	0,0	10,4
5–24 (незначительные)	68,9	18,2	96,6	66,6	51,5	89,5	89,0	83,3	89,6
25–49 (умеренные)	27,5	75,8	0,0	29,4	45,5	5,3	1,4	16,7	0,0
50–95 (тяжелые)	1,1	3,0	0,0	2,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Через 6 мес от начала лечения									
0–4 (отсутствуют)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	18,8	Нет данных	21,4
5–24 (незначительные)	80,0	50,0	100,0	90,0	85,2	100,0	75,0	Нет данных	78,6
25–49 (умеренные)	20,0	50,0	0,0	7,5	11,1	0,0	6,2	Нет данных	0,0
50–95 (тяжелые)	0,0	0,0	0,0	2,5	3,7	0,0	0,0	Нет данных	0,0
Через 12 мес от начала лечения									
0–4 (отсутствуют)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	33,3	Нет данных	37,5
5–24 (незначительные)	82,1	63,2	100,0	92,6	88,2	100,0	66,7	Нет данных	62,5
25–49 (умеренные)	17,9	36,8	0,0	7,1	11,8	0,0	0,0	Нет данных	0,0
50–95 (тяжелые)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	Нет данных	0,0

Примечание. ЦП — цирроз печени

наиболее значимы при ЦП, независимо от того, в исходе каких заболеваний он развивается, и преимущественно соответствовали умеренным нарушениям. Оценка степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии у детей без ЦП при всех заболеваниях преимущественно соответствовала незначительным нарушениям. Хронический гепатит С, как правило, сопровождался незначительными нарушениями структуры печени.

Полученные данные подтверждают, что хронический гепатит С у детей, как и у взрослых, редко протекает с тяжелым поражением печени и выраженной биохимической активностью [16, 24, 25] по сравнению с болезнью Вильсона и аутоиммунным гепатитом [14, 15].

Продемонстрирован пример использования балльных систем для оценки эффективности терапии при наблюдении в динамике.

ROC-анализ балльной системы определения степени нарушения функции печени и балльной системы определения степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии подтверждает целесообразность их использования при решении вопроса

о необходимости проведения трансплантации печени у детей. В свою очередь, балльная система определения степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии обладает большей значимостью в прогнозировании вероятности проведения трансплантации печени у детей, чем балльная система определения степени нарушения функции печени.

При оценке выживаемости детей методом Каплана–Мейера установлено, что однолетняя выживаемость у детей с болезнью Вильсона и аутоиммунным гепатитом с момента дебюта заболевания при отсутствии выполнения трансплантации печени составляет 92 и 97%, а пятилетняя — и 79 и 80%, соответственно. Снижение выживаемости уже на первом году наблюдения можно объяснить частотой диагностики болезни Вильсона и аутоиммунного гепатита на стадии декомпенсированного ЦП и необходимостью выполнения срочной трансплантации печени, что соответствует данным мировой литературы [14, 15, 26].

Из данных корреляционного анализа следует, что степень нарушения функции печени находится в прямой зависимости от степени нарушения ее структуры и вы-

раженности портальной гипертензии. Стойкое снижение функции печени на  $\geq 40\%$  и нарушение структуры печени и выраженности портальной гипертензии на  $\geq 40\%$  обуславливают необходимость решения вопроса о проведении плановой трансплантации печени при ее хронических болезнях у детей.

### Заключение

Разработанные балльные системы определения степени нарушения функции и степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии у детей могут служить объективным критерием оценки тяжести поражения печени, использоваться для контроля их из-

менений в динамике с оценкой эффективности проводимой терапии, быть критерием определения показаний и срочности проведения трансплантации печени, применяться для создания «модели пациента» при хронических болезнях печени с последующей разработкой стандартов и протоколов оказания медицинской помощи, использоваться при проведении медико-социальной экспертизы при определении категории «ребенок-инвалид».

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Лурье Ю.Э., Метелин А.В., Кузнецова А.Е. Современные прогностические модели выживаемости пациентов с терминальными стадиями заболеваний печени. *Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал им. акад. Б.В. Петровского*. 2014; 2: 48–58.
2. Dehghani S.M., Gholami S., Bahador A., Haghghat M., Imanieh M.H., Nikeghbalian S. et al. Comparison of Child–Turcotte–Pugh and pediatric end-stage liver disease scoring systems to predict morbidity and mortality of children awaiting liver transplantation. *Transplant. Proc.* 2007; 39 (10): 3175–3177.
3. Шифф Ю.Р., Соррел М.Ф., Медрей У.С. Цирроз печени и его осложнения. Трансплантация печени. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012. 592 с.
4. Rajanayagam J., Coman D., Cartwright D., Lewindon P.J. Pediatric acute liver failure: etiology, outcomes, and the role of serial pediatric end-stage liver disease scores. *Pediatr. Transplant.* 2013; 17 (4): 362–368.
5. Freeman R.B., Harper A., Edwards E.B. Excellent liver transplant survival rates under the MELD / PELD system. *Transplant. Proc.* 2005; 37 (2): 585–588.
6. Squires R.H., Ng V., Romero R., Ekong U., Hardikar W., Emre S., Mazariegos G.V. Evaluation of the Pediatric Patient for Liver Transplantation: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American Society of Transplantation and the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Hepatology*. 2014; 60 (1): 362–398.
7. Международная классификация функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья. *Женева: ВОЗ*. 2001. 342 с.
8. World Health Organization. International Classification of Functioning, Disability and Health: Child and youth version. *Geneva: World Health Organization*. 2007. 322 p.
9. Mabrouk M., El-Raziky M., Zayed N., Salama R., El-Akel W., Awad T. et al. Clinical, biochemical and pathological profiles of 5464 Egyptian chronic hepatitis C-infected patients. *Hepatogastroenterology*. 2013; 60 (127): 1731–1735.
10. Guechot J., Boisson R.C., Zarski J.P., Sturm N., Cales P., Lasnier E. et al. AST/ALT ratio is not an index of liver fibrosis in chronic hepatitis C when aminotransferase activities are determinate according to the international recommendations. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2013; 37 (5): 467–472.
11. Aktug Demir N., Kolgelier S., Ozcimen S., Gungor G., Sumer S., Saltuk Demir L. et al. Evaluation of the relation between hepatic fibrosis and basic laboratory parameters in patients with chronic hepatitis B fibrosis and basic laboratory parameters. *Hepat. Mon.* 2014; 14 (4): 16975.
12. Волюнец Г.В., Потапов А.С., Полякова С.И., Александров А.Е., Сенякович В.М., Сурков А.Н., Чёткина Т.С., Евлюхина Н.Н., Сковцова Т.А. Определение степени нарушения функции печени у детей. *Вопросы современной педиатрии*. 2013; 4: 47–51.
13. Волюнец Г.В., Евлюхина Н.Н., Филин А.В., Потапов А.С., Шавров А.А., Дворяковский И.В., Сурков А.Н., Аникин А.В., Зеликович Е.И. Нарушение структуры печени и выраженность портальной гипертензии у детей на основе Международной классификации функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья. *Вестник Всероссийского общества специалистов по медико-социальной экспертизе, реабилитации и реабилитационной индустрии*. 2014; 3: 49–60.
14. Manns M.P., Czaja A.J., Gorham J.D., Krawitt E.L., Mieli-Vergani G., Vergani D. et al. American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2010; 51 (6): 2193–2213.
15. European Association for Study of Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease. *J. Hepatol.* 2012; 56 (3): 671–685.
16. European Association for the Study of the Liver. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2014. *J. Hepatol.* 2014; 61 (2): 373–395.
17. Дворяковский И.В. Ультразвуковая анатомия здорового ребенка. М.: Фирма СТРОМ. 2009. 384 с.
18. Meng F., Zheng Y., Zhang Q., Mu X., Xu X., Zhang H., Ding L. Noninvasive Evaluation of Liver Fibrosis Using Real-time Tissue Elastography and Transient Elastography (FibroScan). *J. Ultrasound Med.* 2015; 34 (3): 403–410.
19. Chen Y.P., Liang X.E. Noninvasive Assessment of Liver Fibrosis: Reduce or Substitute the Need for Liver Biopsy? *Liver Int.* 2015. Doi: 10.1111/liv.12824.
20. Ferraioli G., Tinelli C., Lissandrin R., Zicchetti M., Dal Bello B., Filice G., Filice C. Point shear wave elastography method for assessing liver stiffness. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20 (16): 4787–4796.
21. Desmet V.J., Gerber M., Hoofnagle J.H., Manns M., Scheuer P.J. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology*. 1994; 19: 1513–1520.
22. Squires J.E. 50 years ago in the Journal of Pediatrics: needle biopsy of the liver in infants and children. *J. Pediatr.* 2014; 165 (2): 299.
23. Шавров А.А., Пелих С.Т., Клочков С.А. Изменения верхних отделов пищеварительного тракта при хронических заболеваниях печени и портальной гипертензии. *Педиатрия*. 1999; 2: 26.
24. Iorio R., Giannattasio A., Sepe A., Terracciano L.M., Vecchione R., Vegnente A. Chronic hepatitis C in childhood: an 18-year experience. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41 (10): 1431–1437.
25. Munir S., Saleem S., Idrees M., Tariq A., Butt S., Rauff B., Husain A., Badar S., Naudhani M., Fatima Z., Ali M., Ali L., Akram M., Aftab M., Khubab B., Awan Z. Hepatitis C treatment: current and future perspectives. *Virology*. 2010; 7: 296.
26. Чёткина Т.С. Болезнь Вильсона у детей: диагностика, течение и прогноз. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 2004. 24 с.

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вольнец Галина Васильевна**, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник гастроэнтерологического отделения с гепатологической группой Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-06-97, e-mail: volynec\_g@mail.ru

**Евлюхина Наталья Николаевна**, аспирант гастроэнтерологического отделения с гепатологической группой Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-06-97, e-mail: ignatenko.n.n@mail.ru

**Филин Андрей Валерьевич**, доктор медицинских наук, заведующий отделением пересадки печени РНЦХ

Адрес: 119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2, тел.: +7 (499) 766-47-31, e-mail: docfilin@inbox.ru

**Потапов Александр Сергеевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий гастроэнтерологическим отделением с гепатологической группой Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7(499) 134-06-97, e-mail: potapov@nczd.ru

**Дворяковский Игорь Вячеславович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением ультразвуковой диагностики Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 132-26-01, e-mail: dvor09@yandex.ru

**Дворяковская Галина Михайловна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения ультразвуковой диагностики Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 132-26-01, e-mail: dvoryakovskay@nczd.ru

**Сурков Андрей Николаевич**, кандидат медицинских наук, врач-гастроэнтеролог отделения восстановительного лечения детей с болезнями органов пищеварительной системы Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-01-57, e-mail: surkov@nczd.ru

**Шавров Андрей Александрович**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения гнойной хирургии НИИ неотложной детской хирургии и травматологии

Адрес: 119180, Москва, ул. Большая Полянка, д. 22, тел.: +7 (495) 959-51-20, e-mail: Shavrova@yandex.ru

**Пахомовская Надежда Леонидовна**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник гастроэнтерологического отделения с гепатологической группой Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-06-97, e-mail: chexonte76@mail.ru

**Скворцова Тамара Андреевна**, аспирант гастроэнтерологического отделения с гепатологической группой Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-06-97, e-mail: skvortcova.tamara@yandex.ru



<sup>1</sup> Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация<sup>2</sup> Иркутский институт повышения квалификации работников образования, Российская Федерация

# Гигиеническая оценка учебных текстов: методические подходы и оценка трудности для детей общеобразовательных учебников

Понимаемость и удобочитаемость (легкость чтения) текста — значимые признаки оценки учебников. **Цель исследования:** обосновать совершенствование удобочитаемости и понимаемости текстов учебников. **Методы:** изучено 60 современных учебников для 1–11-х классов по истории, физике, биологии, а также 23 учебника, изданные в 1960–1980 гг. Для оценки удобочитаемости использовали показатель Флеша, для оценки понимаемости — индекс Фога. **Результаты:** удобочитаемость и понимаемость текстов учебников 1960–1980-х гг. и современных изданий не отличается, что свидетельствует об одинаковой сложности для обучающихся старых и современных учебников. Показатель понимаемости учебников для начальных классов соответствует возрастной норме и составляет  $4,4 \pm 0,2$  балла. Показатель легкости чтения этих учебников меньше возрастной нормы и равен  $53,8 \pm 2,9$  балла, что повышает физиологическую «стоимость» учебной деятельности детей младшего школьного возраста. Удобочитаемость и понимаемость детьми текстов школьных учебников — значимый фактор напряженности учебной деятельности. Он может быть объективно оценен с помощью показателя Флеша и индекса Фога, что целесообразно для объективной гигиенической оценки напряженности учебной деятельности детей. **Заключение:** основным направлением оптимизации напряженности учебной деятельности является снижение интеллектуальных и эмоциональных нагрузок у детей путем повышения легкости чтения школьных учебников за счет их соответствия возрастным особенностям обучающихся.

**Ключевые слова:** гигиеническая безопасность учебников, удобочитаемость, понимаемость, показатель Флеша, индекс Фога, методы оценки учебников.

(Для цитирования: Кучма В.Р., Ткачук Е.А. Гигиеническая оценка учебных текстов: методические подходы и оценка трудности для детей общеобразовательных учебников. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 214–221. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1315)

## Обоснование

Чтение — сложный психофизиологический процесс, включающий как технику чтения, так и его понимание, требующий остроты зрения, аккомодации, движения глаз и участия таких психических функций, как быстрота зрительного различения, зрительное внимание и зрительная память [1].

В НИИ гигиены и охраны здоровья детей и подростков Научного центра здоровья детей (Москва) на протяжении многих лет изучается влияние чтения на организм школьников разного возраста в зависимости от способов предъявления текстовой информации на страницах учебной литературы и электронных носителей: размер шрифта основного и дополнительного текста, длина строки, увеличение интерлиньяжа (межстрочный пробел),

V.R. Kuchma<sup>1</sup>, E.A. Tkachuk<sup>2</sup><sup>1</sup> Scientific Centre of Children's Health, Moscow, Russian Federation<sup>2</sup> Irkutsk Institute of Teacher Training, Russian Federation

## Hygienic Assessment of Educational Texts: Methodical Approaches and Evaluation of Difficulties for Children of Secondary Textbooks

**Background:** The understandability and readability of the text are significant indicators of evaluation of textbooks. **Objective:** The aim of the study — rationale of improving the readability and understandability of textbooks. **Methods:** 60 modern textbooks for 5–11th classes on History, Physics, Biology and 23 textbooks of 1960–1980's edition. Flesch index was used to assess the readability, Fogh index — to evaluate understandability. **Results:** The readability and understandability of texts in textbooks of 1960–1980's and modern editions have no differences and show the same complexity of old and modern textbooks for students. The indicator of understandability of textbooks for primary classes corresponds to age norm and is  $4.4 \pm 0.2$  points. The indicator of readability for these books is less age norm and is  $53.8 \pm 2.9$  points, which increases the physiological cost of educational activities of children of primary school age. Children's readability and understandability of school textbooks are a significant factor of intensity of training activities and can be objectively assessed by Flesch and Fogh indices, that it is appropriate for an objective hygienic assessment of the tension of the educational activities for children. **Conclusion:** The main direction of optimization of the tension of educational activity is to reduce the intellectual and emotional loads in children by increasing the easiness of reading textbooks due to their compliance with the age peculiarities of students.

**Key words:** hygienic safety textbooks, readability, understandability, Flesch index, Fogh index, methods of textbook evaluation.

(For citation: Kuchma V.R., Tkachuk E.A. Hygienic Assessment of Educational Texts: Methodical Approaches and Evaluation of Difficulties for Children of Secondary Textbooks. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 214–221. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1315)

## Методы

рисунок шрифта и т.д. [1, 2]. Результаты проведенных исследований позволили разработать требования к учебным изданиям для общего и начального профессионального образования<sup>1</sup>, книжным и журнальным изданиям для детей и подростков<sup>2</sup>, внедрение которых способствовало существенному сокращению числа учебников и учебных пособий, не соответствующих гигиеническим нормам.

В работах отдельных авторов показана взаимосвязь между сложностью понимания текста учебника и успеваемостью обучающихся [3, 4]; доказано наличие корреляции между средней сложностью текста учебников и средним процентом неуспевающих учеников; установлено [5], что уменьшение сложности теста учебника на 4 ед. увеличивает понимание учебного материала на 12%, а его усвоение — на 13% [6].

Универсальный показатель удобочитаемости, предложенный Л.М. Текшевой (2007), показывает меру утомления от функциональной зрительной нагрузки и зависит от адаптационных характеристик зрения, контрастной чувствительности зрения, состояния аккомодационного аппарата глаза, интегрального состояния зрительной системы. Предложено использовать этот показатель в качестве экспресс-метода в лабораторных и естественных условиях для определения степени воздействия различной текстовой нагрузки на зрительную систему [7].

Однако современные понятия об удобочитаемости более обширны, чем только шрифтовое и внешнее оформление учебников, и включают показатели понимаемости текста [8–10], определяемые наиболее распространенными и доступными в настоящее время показателем Флеша и индексом Фога [9].

С.В. Окладникова в серии публикаций анализирует методы оценки читабельности текстов и показывает высокоэффективные технологии и методики диагностики качества образования, разработки, механизмы проверки и тиражирования контрольных тестовых материалов, которыми занимаются специальные организации. Так, к примеру, в США это Educational Testing Service ETS ([www.ets.org](http://www.ets.org)), в Великобритании — The Qualifications and Curriculum Authority QCA (<http://www.qca.org.uk>), в России — Федеральный институт педагогических измерений (<http://www.fipi.ru>) [11–13].

Несмотря на уровень развития современного образования и книгоиздания в России, на сегодня не разработано гигиенических подходов к оценке удобочитаемости с точки зрения легкости восприятия и понимаемости учебных текстов [13–15].

Цель исследования состояла в том, чтобы обосновать оптимизацию напряженности учебной деятельности детей за счет совершенствования удобочитаемости и понимаемости текстов учебников.

Задачи исследования:

- оценка удобочитаемости учебников по показателям легкости чтения текста и его понимания;
- оценка удобочитаемости (легкости) и понимаемости текстов учебников 1960–1980-х гг. и современных изданий;
- разработка методики оценки удобочитаемости и понимаемости текстов учебников как фактора напряженности учебной деятельности.

### Дизайн исследования

Проведено исследование учебных текстов для обучающихся 1–11-х классов. В качестве контроля служили учебники, изданные во второй половине XX в. (исследование с историческим контролем).

### Критерии соответствия

Критерии соответствия — принадлежность книг к учебной литературе по разным предметам для обучающихся 1–11-х классов, а также указание об их допуске Министерством образования СССР и Российской Федерации к использованию в качестве учебников.

### Условия проведения

Исследование проведено в условиях лаборатории Иркутского института повышения квалификации работников образования. При этом под удобочитаемостью понимали свойство текстового материала, характеризующее легкость чтения его обучающимися, определяющее сенсорную нагрузку; под понимаемостью — свойство текстового материала, характеризующее легкость восприятия его обучающимися и определяющее интеллектуальную нагрузку.

### Продолжительность исследования

Гигиеническая оценка удобочитаемости учебных текстов учениками была выполнена в течение одного учебного года (2011–2012 г.).

### Описание эксперимента

Естественный гигиенический эксперимент состоял в лабораторной оценке удобочитаемости учебных текстов 83 учебников (изданий). В каждом издании оценивали 30 отрывков текста, каждый из которых составлял 100 слов. Ввиду специфики учебников для начальных классов для оценки использовали 10–15 отрывков в каждом издании. Предлоги и союзы, имена собственные не учитывали. Всего было оценено 2265 отрывков, содержащих свыше 226 тыс. слов.

### Исходы исследования

Исходом исследования являлось получение информации о тексте, достаточной для проведения специальных расчетов по соответствующим формулам.

### Методы регистрации исходов

Исходы регистрировали по общему числу слов в отрывке, числу предложений в нем, числу слов в предложении, в т.ч. многосложных, числу слогов в слове.

Для оценки удобочитаемости использовали показатель Флеша, понимаемости — индекс Фога.

В исследовании применяли скорректированную для русского языка и уровня образования, необходимого для восприятия текста, формулу удобочитаемости Флеша [16]:

$$\text{Индекс Флеша} = 206,835 - (1,3 \times \text{ASL}) - (60,1 \times \text{ASW}),$$

где ASL — средняя длина предложения (число слов, деленное на число предложений); ASW — среднее число слогов в слове (число слогов, деленное на число слов).

<sup>1</sup> СанПиН 2.4.7.1166-02 Гигиенические требования к изданиям учебным для общего и начального профессионального образования (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 7 октября 2002 г.). URL: <http://www.mhsts.ru/biblio/SANPIN.asp>

<sup>2</sup> СанПиН 2.4.2.2821-10 Санитарно-эпидемиологические требования к условиям и организации обучения в общеобразовательных учреждениях. URL: <http://www.mhsts.ru/biblio/SANPIN.asp>

Текст оценивали по 100-балльной шкале. Чем выше значение, тем проще понять текст. Для большинства стандартных текстов показатель Флеша должен иметь значение от 60 до 70 баллов. В нашем исследовании показатель Флеша оценивали в соответствии с литературными данными: значение показателя 91–100 оптимально для детей 5-го, 81–90 — 6-го, 71–80 — 7-го, 61–70 — 8–9-го, 51–60 — 10–11-го класса [15, 17].

Дополнительно показатель Флеша оценивали по формуле школьного теста Флеша–Кинкейда [17]:

$$i = 0,39a + 11,80b - 15,59,$$

где  $i$  — показатель Флеша,  $a$  — средняя длина предложений по числу слов,  $b$  — среднее число слогов в слове.

Кроме того, использовали Индекс Фога (или Ганнинга) по формуле Ганнинга [16]:

$$\text{Индекс Ганнинга} = 0,4 \left[ 0,78 \left( \frac{\text{слов}}{\text{предложений}} + 100 \frac{\text{число сложных слов}}{\text{число слов}} \right) \right],$$

где 0,78 — поправочный коэффициент для русского языка.

Индекс Фога оценивали в соответствии с уровнем образования, необходимого для понимания текста: 16–20 — для понимания требуется высшее образование, 9–10 — необходимо образование на уровне 7–8-го, 7–8 — 5–6-го класса [15, 17]. Индекс Фога показывает, какой образовательный уровень нужен для усвоения материала. Чем меньше индекс, тем большей аудитории будет понятен материал. В нашем исследовании ориентировались на уровень 10–12 и менее.

Индекс Колемана–Лиану позволяет оценить читабельность текстов (чем меньше индекс, тем читабельнее текст) и рассчитывается по формуле [15]:

$$\text{Индекс Колемана–Лиану} = \frac{x}{k} + 30 \frac{s}{k} - 15,8,$$

где  $x$  — общее число символов в тексте,  $k$  — общее число слов в тексте,  $s$  — число предложений в тексте.

Индекс Маклаулина SMOG (прогнозирует 100% понимание текста) рассчитывали для 30 предложений по формуле [18]:

$$\text{SMOG} = 1,0430 \times \sqrt{\frac{L}{S}} \times \sqrt{1} + 1,1291,$$

где  $L$  — слова из трех и более слов,  $1$  — среднее число многосложных слов,  $S$  — число предложений в тексте.

Чем меньше индекс, тем большей аудитории читателей доступен текст.

Для каждого отрывка текста отдельно вычисляли каждый из показателей. Все индексы измеряли в условных единицах (у.е.).

### Статистический анализ

Объем основной выборки определялся требованиями методов оценки удобочитаемости текстов в одном из-

дании: 15–30 отрывков учебного текста, включающих не менее 100 слов.

Общий размер выборки предварительно не рассчитывался, но оказался достаточным для получения репрезентативных данных (свыше 2,5 тыс. слов на учебник).

Статистическую обработку результатов исследования проводили при помощи Statistica Base 10 for Windows Ru (StatSoft Inc., США). В ходе статистической обработки вычисляли среднюю арифметическую ( $M$ ), среднее квадратичное отклонение ( $\delta$ ), среднюю ошибку средней арифметической ( $m$ ). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

## Результаты

### Объект исследования

Исследованию были подвергнуты учебники для обучающихся 1–11-х классов: 15 книг для начальных классов, 29 учебников по истории, 18 — по физике, 13 — по биологии и 8 изданий 1960–1980-го г. выпуска.

### Основные результаты исследования

По результатам исследования выяснилось, что тексты учебников для начальной школы содержат большее число длинных слов в предложении, чем это доступно ученику начальной школы (табл. 1 и 2).

Индекс Флеша также превышал допустимые для обучающихся показатели. Так, в возрасте 7–9 лет индекс Флеша должен составлять не менее 80 у.е. (диапазон 80–100 у.е.). На практике он был равен  $53,8 \pm 2,9$ .

Индекс Колемана–Лиану, с помощью которого оценивают читабельность текстов, имел более высокие значения ( $16,9 \pm 0,2$ ) по сравнению с допустимыми ( $p < 0,05$ ).

Показатель Фога имел допустимые значения. Индекс Флеша–Кинкейда, напротив, характеризовался значениями, недопустимыми для начальной школы. В начальной школе он должен составлять 1–3 у.е., а оказался равен  $12,9 \pm 0,6$ , что соответствует 13 годам обучения.

Индекс Маклаулина SMOG продемонстрировал большее, чем допустимое, значение ( $p < 0,05$ ). Индекс определяет, какого возраста должен быть ученик, чтобы достигнуть 100% понимания текста. В нашем случае учебники для начальных классов без труда могли понимать лишь дети с 12 лет.

Таким образом, тексты учебников для начальной школы трудно читаемы и плохо понимаемы детьми начальных классов. Это требует гигиенического контроля их использования, и должно быть учтено при разработке учебников нового поколения.

В текстах учебников для 5–11-х классов число слогов не изменялось в зависимости от возрастной категории детей, использующей учебники (табл. 3–8). При этом среднее число длинных слов достоверно увеличивалось ( $p < 0,05$ ). Среднее число слов в предложениях у разных авторов значительно варьировало. В некоторых современных учебниках число слов в предложениях составило  $17,0 \pm 0,3$ .

Таблица 1. Показатели легкости чтения (удобочитаемости) текстов учебников для начальной школы ( $M \pm m$ )

Показатель удобочитаемости	Фактическое значение	Допустимое значение
Число слов в предложении	$8,7 \pm 0,5$	7–10
Число слогов в слове	$2,1 \pm 0,04$	2–2,5
Число длинных слов	$2,5 \pm 0,2$	0–2
Индекс Флеша	$53,8 \pm 2,9$	80–100
Индекс Колемана–Лиану	$16,9 \pm 0,2$	2–7

Таблица 2. Показатели понимаемости текстов учебников для начальной школы ( $M \pm m$ )

Показатель удобочитаемости	Фактическое значение	Допустимое значение
Показатель Фога (Ганнинга)	4,4±0,2	4–6
Индекс Флеша–Кинкэйда	12,9±0,6	1–3
Индекс Маклаулина «SMOG»	12,2±0,7	7–10

Таблица 3. Показатели легкости чтения (удобочитаемости) текстов учебников для 5–11-х классов по истории ( $M \pm m$ )

Показатель удобочитаемости	Фактическое значение	Допустимое значение
Число слов в предложении	11,5±0,3	11–14
Число слогов в слове	2,7±0,03	2,5–3
Число длинных слов	5,0±0,2	2–4
Индекс Флеша	29,8±2,3	60–81
Индекс Колемана–Лиау	18,8±0,2	8–13

Таблица 4. Показатели понимаемости текстов учебников для 5–11-х классов по истории ( $M \pm m$ )

Показатель удобочитаемости	Фактическое значение	Допустимое значение
Показатель Фога (Ганнинга)	6,1±0,2	7–10
Индекс Флеша–Кинкэйда	20,7±0,5	4–9
Индекс Маклаулина «SMOG»	7,9±0,1	11–16

Таблица 5. Показатели легкости чтения (удобочитаемости) текстов учебников для 5–11-х классов по физике ( $M \pm m$ )

Показатель удобочитаемости	Фактическое значение	Допустимое значение
Число слов в предложении	12,9±0,7	11–14
Число слогов в слове	2,8±0,06	2,5–3
Число длинных слов	5,9±0,3	2–4
Индекс Флеша	21,3±4,1	60–81
Индекс Колемана–Лиау	19,5±0,3	8–13

Таблица 6. Показатели понимаемости текстов учебников для 5–11-х классов по физике ( $M \pm m$ )

Показатель удобочитаемости	Фактическое значение	Допустимое значение
Показатель Фога (Ганнинга)	6,9±0,4	7–10
Индекс Флеша–Кинкэйда	22,6±0,8	4–9
Индекс Маклаулина «SMOG»	8,5±0,2	11–16

Таблица 7. Показатели легкости чтения (удобочитаемости) текстов учебников для 5–11-х классов по биологии ( $M \pm m$ )

Показатель удобочитаемости	Фактическое значение	Допустимое значение
Число слов в предложении	12,6±0,7	11–14
Число слогов в слове	2,9±0,5	2,5–3
Число длинных слов	6,0±0,4	2–4
Индекс Флеша	17,2±3,1	60–81
Индекс Колемана–Лиау	19,6±0,3	8–13

Таблица 8. Показатели понимаемости текстов учебников для 5–11-х классов по биологии ( $M \pm m$ )

Показатель удобочитаемости	Фактическое значение	Допустимое значение
Показатель Фога (Ганнинга)	6,9±0,4	7–10
Индекс Флеша–Кинкэйда	23,3±0,7	4–9
Индекс Маклаулина «SMOG»	8,7±0,2	11–16



Авторы при изложении текста использовали слова, в среднем состоящие из 2,4–3,1 слогов. У разных авторов эти показатели существенно не отличались, однако наблюдалась тенденция: чем более длинные предложения использовали авторы, тем из большего числа слогов состояли слова в них.

При рассмотрении числа используемых слогов в словах установили, что для учебника по истории среднее число слогов в тексте составляет  $2,7 \pm 0,2$ , по физике —  $2,8 \pm 0,2$ , по биологии —  $2,9 \pm 0,2$ . Различия в значениях статистически незначимы ( $p > 0,05$ ).

Число слогов в текстах в зависимости от возраста целевой аудитории также достоверно не изменялось ( $p > 0,05$ ).

Среднее число длинных слов на одно предложение в учебных текстах по истории составило  $5,0 \pm 0,01$ , по физике —  $5,6 \pm 0,2$ , по биологии —  $6,0 \pm 0,3$ .

Установлена тенденция к увеличению числа длинных слов в зависимости от возраста учащихся. Показатели в учебниках для 5-х и 11-х классов значимо различались ( $p < 0,05$ ).

Самые перегруженные словами предложения встречались в учебнике биологии для 10–11-х классов П.М. Бородин и соавт. (2006): среднее число слов в предложениях составило  $18,0 \pm 0,7$ . Учебник физики для 11-го класса С.В. Громова под ред. Н.В. Шароновой (2001) также оказался перегружен предложениями с большим числом слов: среднее число слов  $17,8 \pm 0,02$ .

Наименьшее число слов в предложениях ( $8,4 \pm 0,8$ ) отмечено в учебнике истории В.А. Головиной и соавт. для 5-х классов (2003).

Зафиксирована тенденция к увеличению числа слов в предложениях в зависимости от возраста учащихся, однако значения показателей достоверно не отличались друг от друга ( $p > 0,05$ ).

По показателю Флеша только немногие исследуемые учебные издания соответствовали уровню школьного возраста. К ним относятся такие издания, как учебник по истории В.А. Головиной и соавт. для 5-х классов (2003) — показатель Флеша  $32,4 \pm 1,3$ ; учебник по истории В.И. Уколова и соавт. под ред. А.О. Чубарьяна (2004) — показатель Флеша  $30,8 \pm 0,6$ . В этот же список можно добавить учебник по физике для 7-х классов С.В. Громова и соавт. (2000): показатель Флеша при оценке этого издания составил  $29,1 \pm 1,3$ .

Анализ показателей удобочитаемости учебников по разным предметам позволил установить, что индекс Флеша составил от  $17,2 \pm 3,1$  в учебниках по биологии и  $21,3 \pm 4,1$  в учебниках по физике до  $29,8 \pm 2,3$  в учебниках по истории, что не соответствует возрастным нормам ( $p < 0,05$ ).

Индекс Колемана–Лиану для учебников по истории оказался равен  $18,8 \pm 0,2$ , по физике —  $19,5 \pm 0,3$ , что также не соответствует допустимому диапазону.

По индексу Фога, рассчитанному отдельно для каждого учебника, сложность понимания учебных текстов имела тенденцию к снижению в 5–6-х классах. Показатель Фога приближался к соответствию возрастным нормам и варьировал от одного издания к другому в пределах от  $6,1 \pm 0,1$  до  $6,9 \pm 0,3$ .

Индекс Флеша–Кинкэйда составил  $20,7 \pm 0,5$  для учебников по истории,  $22,6 \pm 0,8$  — для изданий по физике и  $23,3 \pm 0,7$  — для книг по биологии, что не соответствует возрастным нормам.

Индекс Маклаулина SMOG имел меньшие значения, чем принято для возрастной аудитории.

Многие педагоги считают, что учебники, изданные в 1960–1980-х гг., написаны более «легким» и доступным для понимания языком. Для подтверждения этой гипотезы были изучены тексты некоторых вышедших из употребления учебников. Результаты исследования представлены в табл. 9.

В старых изданиях среднее значение числа слогов в словах составило  $2,8 \pm 0,2$ . Современные издания содержат то же число слогов:  $2,8 \pm 0,2$ . Среднее число слов в предложениях было равно  $12,3 \pm 0,8$  (в современных изданиях —  $12,03 \pm 0,4$ ). Среднее число длинных предложений в старых учебниках составило  $5,5 \pm 0,09$ , в современных —  $5,4 \pm 0,4$ . Показатель Флеша для старых книг —  $8,4 \pm 0,8$ , для современных —  $9,0 \pm 0,04$ . Индекс Фога был равен  $6,6 \pm 1,03$  и  $6,4 \pm 0,2$ , соответственно.

Анализ полученных результатов позволил разработать и предложить методы гигиенической оценки учебных текстов с помощью наиболее значимых показателей (табл. 10).

При гигиенической оценке учебных текстов с помощью представленных показателей необходимо соблюдать следующую технологию оценки учебников: для анализа показателей в одном издании оценивают 30 отрывков текста, каждый из которых составляет 100 слов. Ввиду специфики учебников для начальных классов для их оценки используют 10–15 отрывков в каждом издании; для каждого отрывка показатели вычисляют отдельно; на основании статистического анализа отрывков в каждом издании определяют среднеарифметические показатели и их стандартные ошибки.

Гигиеническая оценка учебных текстов позволит дать рекомендации издателям учебников и снизить интеллектуальные и сенсорные нагрузки напряженности учебной деятельности. Целесообразно указание в выходных данных, аннотации учебника сведений о показателях их понимаемости и удобочитаемости, установленных с помощью обоснованной методики.

**Таблица 9.** Показатели легкости чтения (удобочитаемости) и понимаемости текстов современных изданий и 60–80 гг. выпуска в сравнении ( $M \pm m$ )

Показатель удобочитаемости	Издания 60–80 гг. XX в.	Современные издания
Число слов в предложении	$12,6 \pm 0,6$	$12,5 \pm 0,7$
Число слогов в слове	$2,8 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,4$
Число длинных слов	$5,5 \pm 0,4$	$5,9 \pm 0,5$
Индекс Флеша	$25,01 \pm 3,9$	$20,6 \pm 3,1$
Индекс Колемана–Лиану	$19,2 \pm 0,3$	$19,6 \pm 0,3$
Показатель Фога (Ганнинга)	$6,6 \pm 0,4$	$6,8 \pm 0,5$
Индекс Флеша–Кинкэйда	$21,8 \pm 0,8$	$22,1 \pm 0,6$
Индекс Маклаулина «SMOG»	$8,3 \pm 0,3$	$8,6 \pm 0,2$

Таблица 10. Показатели легкости чтения (удобочитаемости) и понимаемости текстов современных изданий и 60–80 гг. выпуска в сравнении ( $M \pm m$ )

Показатель	Формула для определения	Возраст, лет	Допустимое значение	Источник данных
Показатели удобочитаемости (легкости чтения)				
Индекс Флеша	$206,835 - (1,3 \times ASL) - (60,1 \times ASW)$ , где ASL — средняя длина предложения (число слов, деленное на число предложений); ASW — среднее число слогов в слове (число слогов, деленное на число слов)	7–8	96–100	Flesch R. [19] Оборнева И.В. [6]
		8–10	91–95	
		11–13	81–90	
		14–16	60–70	
Индекс Колемана–Лиану	$5,89 + x/k + 30s/k - 15,8$ , где x — общее число символов в тексте, k — общее число слов в тексте, s — число предложений в тексте	7–8	2–4	McLaughlin G.H. [20] Chall J.S. [21] Оборнева И.В. [6]
		8–10	5–7	
		11–13	8–10	
		14–16	11–13	
Показатели понимаемости				
Показатель Фога (Ганнинга)	$0,4 [0,78 (\text{слов} / \text{предложений}) + 100 (\text{число сложных слов} / \text{число слов})]$	7–8	4–5	Gunning R. [22]
		8–10	5–6	
		11–13	7–8	
		14–16	9–10	
Индекс Флеша–Кинкэйда	$0,39a + 11,80b - 15,59$ , где i — показатель Флеша, a — средняя длина предложений по числу слов, b — среднее число слогов в слове	7–8	1–2	Flesch R. [19] Оборнева И.В. [6]
		8–10	2–3	
		11–13	4–6	
		14–16	7–9	
Индекс Маклаулина «SMOG»	$1,0430 \times \sqrt{\frac{L}{S}} \times \sqrt{I} + 1,1291$ , где L — слова из 3 и более слов, I — среднее число многосложных слов, S — число предложений в тексте	7–8	7–8	Fitzsimmons. P. [23] Оборнева И.В. [6]
		8–10	8–10	
		11–13	11–13	
		14–16	14–16	

219

### Обсуждение

Значимым фактором напряженности учебной деятельности является удобочитаемость и понимаемость детьми текстов школьных учебников, объективно оцениваемые с помощью показателя Флеша и индекса Фога.

Индекс Фога рассчитывают на основании анализа текста, он позволяет определить среднюю длину предложений, число слов, состоящих из трех и более слогов, т.е. качество восприятия текста. По данным индекса можно также определить, каков необходимый образовательный уровень для усвоения данного материала [24]. Люди с высшим образованием способны воспринимать тексты с индексом 16, в то время как индекс Фога большинства любовных романов составляет 7–8. Сложность языка газет соответствует уровню 8-го класса средней школы. Индекс Фога первоначально предназначался для англоязычных целей, а затем был скорректирован для русского языка [17, 25].

Формула читаемости Флеша (Flesch readability formula) прогнозирует легкость чтения письменного материала. Она также позволяет определить среднюю длину предложений и среднюю длину слов. Чем меньше индекс, тем сложнее воспринимается текст [9, 26, 27].

Индекс Фога и формула Флеша позволяют судить о том, будет ли материал воспринят целевой аудиторией [17].

Имеются также отдельные работы, связанные с построением математических моделей оценки и анализа англоязычных текстов по различным параметрам [8, 28]. Ряд работ посвящен использованию частотного анализа для обоснования структуры учебного содержания [8, 14, 29].

Кроме того, гигиенисты изучали школьные учебники с помощью индекса сложности учебного текста по Н.П. Гребняку, который рассчитывается по формуле [26]:

$$I_c = D_{cp} \times \lg D_c,$$

где  $D_{cp}$  — средняя длина слова (в слогах);  $D_c$  — средняя длина предложений (в словах).

Также установлено, что из-за отклонений в весе, шрифтовом оформлении основного текста, высокой компонентной сложности и абстрактности учебники являются фактором риска формирования патологии зрения, нервной и костно-мышечной системы среди учащихся образовательных учреждений [29, 30].

Отсутствие четких гигиенических критериев оценки учебных текстов заставляет авторов учебников ориентироваться больше на свою интуицию, чем на научные разработки гигиены. Тексты учебников пишутся авторами сообразно своему стилю и уровню образования. По показателю Флеша эти тексты доступны читателю, имеющему уровень образования немногим ниже уровня образования автора, при этом не учитываются возрастные особенности детей (индекс Флеша–Кинкэйда 21,8–22,1, что практически соответствует уровню учащегося магистратуры). В связи с этим нами были разработаны и предложены методы и технология гигиенической оценки учебных текстов с помощью наиболее значимых показателей.

Возможность понимания учебников для начальных классов (по индексу Фога) составляет  $4,4 \pm 0,2$  балла и соответствует возрастным особенностям. Показатель легкости чтения этих учебников составляет  $53,8 \pm 2,9$  балла — меньше возрастной нормы, и работа с ними повышает

физиологическую «стоимость» учебной деятельности детей младшего школьного возраста.

Предлагается использовать также дополнительные показатели:

- индекс Маклаулина SMOG (определяет меру неопределенности текстового материала);
- индекс Флеша–Кинкэйда (используется специально для детей и определяет возраст ребенка, в котором текст доступен для понимания — как правило, применяется при тестировании);
- индекс Колемана–Лиау (необходим для изучения читаемости школьных учебников в США);
- ARI (автоматизированный индекс читаемости — используется в США для определения понимаемости юридических документов);
- формула читаемости Дейл–Чал (нужна для определения трудности отдельных текстов для студентов).

Все эти методы основаны на частотном анализе текста [9, 10, 26].

По показателю Флеша только немногие исследуемые нами учебные издания соответствовали уровню среднего и старшего школьного возраста. Анализ показателей удобочитаемости в учебниках по разным предметам показал, что индекс Флеша составил от 17,2±3,1 для учебников по биологии и 21,3±4,1 для книг по физике до 29,8±2,3 для учебников по истории, что не соответствует возрастным показателям. Индекс Колемана–Лиау равен 18,8±0,2 для учебников по истории, 19,5±0,3 — по физике, что также не соответствует допустимому диапазону. Сложность понимания учебных текстов по индексу Фога имела тенденцию к снижению в 5–6-х классах и приближалась к соответствию возрастным нормам. Индекс Флеша–Кинкэйда составил 20,7±0,5 для учебников по истории, 22,6±0,8 — для книг по физике и 23,3±0,7 — для изданий по биологии, что также не соответствует возрастным нормам. Индекс Маклаулина SMOG имел значения меньше, чем принято для данной возрастной аудитории.

Сравнение удобочитаемости и понимаемости текстов учебников 60–80-х гг. XX в. и современных изданий не

продемонстрировало достоверных различий, что свидетельствует об одинаковой сложности для обучающихся старых и современных учебников. Существующее мнение по поводу лучшей понимаемости старых учебников, скорее всего, говорит лишь о разнообразии форм и стилей современной учебной литературы, в которых школьным учителям зачастую трудно разобраться.

Удобочитаемость и понимаемость детьми текстов школьных учебников — значимый фактор напряженности учебной деятельности. Они могут быть оценены с помощью предложенных показателей, что целесообразно для объективной гигиенической оценки напряженности учебной деятельности детей.

В связи с внедрением в систему образования электронных учебников и приложений к ним также уместна оценка удобочитаемости и понимаемости детьми текстов на различных носителях (мониторах, ридерах и др.).

### Заключение

Оценка удобочитаемости учебников по показателям легкости чтения текста и его понимания свидетельствует о том, что при создании современных учебников не учитывают возрастные особенности обучающихся.

Удобочитаемость (легкость) и понимаемость текстов учебников 60–80-х гг. прошлого столетия не отличаются от аналогичных показателей современных изданий.

Обоснованные гигиенические критерии оценки учебных текстов легли в основу разработанных методов и технологии гигиенической оценки удобочитаемости и понимаемости текстов учебников как фактора напряженности учебной деятельности.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов А.А., Кучма В.Р., Текшева Л.М. Чтение, компьютер и здоровье. *Социальная педиатрия и организация здравоохранения*. 2008; 7; 1: 21–25.
2. Кучма В.Р., Текшева Л.М., Вятлева О.А., Курганский А.М. Особенности восприятия информации с электронного устройства для чтения (ридера). *Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья*. 2012; 1: 39–46.
3. Микк Я.А. Методика измерения трудности текста. *Вопросы психологии*. 1975; 3: 147–155.
4. Микк Я.А. Факторы, определяющие время прочтения слова в связанном тексте. *Вопросы психологии*. 1979; 3: 125–128.
5. Микк Я.А. Оптимизация сложности учебного текста. *М.: Просвещение*. 1981. 119 с.
6. Оборнева И.В. Автоматизация оценки качества восприятия текста. *Вестник Московского городского педагогического университета. Серия: Информатика и информатизация образования*. 2005; 5: 86–91.
7. Текшева Л.М. Разработка и научное обоснование универсального показателя для экспресс-оценки удобочитаемости. *Гигиена и санитария*. 2007; 2: 52–54.
8. Flesch R. Why Johnny still can't read A new look at the scandal of our schools Rudolf Flesch. Forew. by M.L. Burkhardt. *New York etc.: Harper & Row*. 1981. XXII. 191 p.
9. Мацковский М.С. Проблемы читабельности печатного материала. В кн.: Смысловое восприятие речевого сообщения в условиях массовой коммуникации. *М.: Наука*. 1976. С. 126–142.
10. Методика исследования восприятия информации. В кн.: Сборник научных трудов. Под ред. Б.М. Фирсова. *Л.: НИИ ОО В А П Н СССР*. 1972. 152 с.
11. Окладникова С.В. Анализ существующих методов оценки качества тестовых материалов. *Прикаспийский журнал: управление и высокие технологии*. 2008; 1 (1): 77–82.
12. Окладникова С.В. Методика расчета базовых показателей читабельности тестовых материалов на основе экспертных оценок. *Прикаспийский журнал: управление и высокие технологии*. 2009; 3: 85–89.
13. Окладникова С.В. Формирование системы весовых коэффициентов интегрального критерия, оценивающего фактическую сложность формулировок тестовых заданий. *Вестник компьютерных и информационных технологий*. 2009; 6: 46–50.
14. Ткачук Е.А., Филиппов Е.С., Ямщикова О.А. Оценка информационно-психологической безопасности школьных учебников с помощью показателя Флеша и индекса Фога. *Сибирский медицинский журнал*. 2012; 109 (2): 98–100.
15. Окладникова С.В. Модель комплексной оценки читабельности тестовых материалов. *Прикаспийский журнал: управление и высокие технологии*. 2010; 3: 63–71.

16. Flesh R. The art of readable writing. *New York: Harper & Row*. 1974. 187 p.
17. Галяшина Е.И. Методологические основы судебного речеведения. Автореф. дис. ... докт. филол. наук. М. 2003. 48 с.
18. Истратова О.Н. Психодиагностика: коллекция лучших тестов: психологический практикум. 7-е изд. *Ростов-на-Дону: Феникс*. 2010. 375 с.
19. Flesch R. A new readability yardstick. *J. Appl. Psychol.* 1948; 32: 221–233.
20. McLaughlin G.H. SMOG grading-a new readability formula. *J. Reading*. 1969; 22: 639–646.
21. Chall J.S., Bissex J.L., Conard S.S., Sharples S.H. Qualitative assessment of text difficulty: A practical guide for teachers and writers. *Cambridge MA: Brookline Books*. 1996. 221 p.
22. Gunning R. The Technique of Clear Writing. *New York: McGraw-Hill*. 1952 P. 36–37.
23. Fitzsimmons P., Michael B., Hulley J., Scott G. A readability assessment of online Parkinson's disease information. *J. R. Coll. Physicians Edinb.* 2010; 40 (4): 292–296. Doi:10.4997/JRCPE.2010.401.PMID21132132.
24. Кутузов А.Б. Методики определения сложности текста в рамках переводческого анализа. *Вестник Нижегородского государственного лингвистического университета им. Н.А. Добролюбова*. 2009; 4: 30–36.
25. Белянин В.П. Психолингвистика: Учебник. 2-е изд. М: *Флинта: Московский психолого-социальный институт*. 2004. 232 с.
26. Гребняк Н.П., Агаркова Л.Д. Санитарно-эпидемиологические характеристики среды детских дошкольных учреждений. *Гигиена и санитария*. 2000; 6: 46–48.
27. Микк Я.А. Понятность учебного текста и связи в нем. В кн.: Советская педагогика и школа. Вып. 2. *Тарту*. 1970. С. 5–72.
28. Сохор А.М. Логическая структура учебного материала. М.: *Педагогика*. 1974. 192 с.
29. Валеева Э.Р., Степанова Н.В. Адаптация школьников к учебной нагрузке. Гигиеническая наука и практика на рубеже XXI века. В кн.: Материалы IX Всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей. Т. 2. М. 2001. С. 291–292.
30. Валеева Э.Р., Хамитова Р.Я. Гигиеническая оценка учебников образовательных учреждений различного типа. *Гигиена и санитария*. 2006; 3: 64–67.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Кучма Владислав Ремирович**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора Научного центра здоровья детей по научной работе, директор НИИ гигиены и охраны здоровья детей и подростков Научного центра здоровья детей

**Адрес:** 105064, Москва, Малый Казенный пер., д. 5, стр. 5, **тел.:** +7 (495) 917-48-31, **e-mail:** vrkuchma@mail.ru

**Ткачук Алёна Анатольевна**, кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой охраны здоровья, безопасности жизнедеятельности и физической культуры Иркутского института повышения квалификации работников образования Иркутской области

**Адрес:** 664007, Иркутск, ул. Красноказачья, д. 10а, **тел.:** +7 (3952) 20-99-07, **e-mail:** zdorowie38@gmail.com



## Особенности вегетативного реагирования у детей с бронхиальной астмой в периоде обострения заболевания

Бронхиальная астма является одной из актуальных проблем современной педиатрии, однако до настоящего времени до конца не раскрыты нейрорегуляторные механизмы, лежащие в основе этого заболевания. Для понимания патогенеза и прогноза течения болезни несомненно важность оценки вегетативных взаимодействий у больных бронхиальной астмой. **Цель исследования:** изучить особенности вегетативного реагирования у детей с бронхиальной астмой в периоде обострения заболевания. **Методы:** проведено исследование состояния вегетативной нервной системы (ВНС) у 82 детей в возрасте от 6 до 18 лет с бронхиальной астмой в периоде обострения заболевания. Для оценки состояния ВНС применяли спектральный анализ вариабельности сердечного ритма и метод корреляционной ритмографии (скатерографии). Исследования проводили в состоянии покоя и после клиноортостатической пробы. **Результаты:** у 72 (87,80%) детей, испытывающих приступ удушья, в спектрограмме преобладают недыхательные (медленные) волны, отражающие степень активности гуморального и нервного канала центральной регуляции сердечного ритма, причем более чем у половины (58,53%) пациентов преимущественно отмечены колебания ритма в диапазоне очень низкочастотного компонента (VLF%), что говорит о влиянии нейрогуморального звена регуляции. После клиноортостатической пробы зарегистрировано значительное повышение коэффициента вазосимпатического баланса (LF/HF), свидетельствующее об активации симпатической нервной системы. По данным корреляционной ритмографии, у пациентов в фоновом состоянии регистрируется значительный разброс точек скатерограммы, что указывает на преобладающее влияние парасимпатического отдела вегетативной нервной системы, в то время как после клиноортостатической пробы, напротив, мы видим «зажатость» облака скатерограммы, что может свидетельствовать о симпатикотонии. **Заключение:** у детей с бронхиальной астмой имеет место дисбаланс вегетативной нервной системы в виде активации нейрогуморального и симпатического отдела регуляции.

**Ключевые слова:** дети, бронхиальная астма, вегетативная нервная система.

(Для цитирования: Лебедеенко А.А., Семерник О.Е. Особенности вегетативного реагирования у детей с бронхиальной астмой в периоде обострения заболевания. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 222–226. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1316).

### Обоснование

Несмотря на существенный прогресс в понимании патогенеза заболевания, бронхиальная астма (БА) остается одной из актуальных проблем современной пульмонологии. Согласно результатам эпидемиологических ис-

следований последних лет, распространенность данного заболевания среди детского населения варьирует от 5 до 10% [1]. Наряду с этим отмечается выраженная тенденция к ежегодному увеличению распространенности БА [2]. Наиболее значимый вклад в генез бронхоспазма в периоде обострения заболевания вносит повышение актив-

A.A. Lebedenko, O.E. Semernik

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

## Features of Autonomic Response in Children with Bronchial Asthma in the Period of Exacerbation

**Background:** Asthma is one of the urgent problems of modern pediatrics, but neuroregulation mechanisms underlying this disease have not been fully disclosed so far. The autonomic interactions assessment in patients with bronchial asthma is important to understand the pathogenesis and prognosis of the disease. **Objective:** The aim of the study was to investigate features of autonomic response in children with asthma in the period of exacerbation. **Methods:** The autonomic nervous system (ANS) of 82 children aged 6 to 18 years old with asthma in the period of exacerbation were investigated. The spectral analysis of the heart rate variability and the correlation rhythmography method (skaterography) were used to assess the ANS state. Investigations were carried out at rest and after clinooorthostatic test. **Results:** Non-respiratory (slow) waves reflecting the degree of activity of humoral and neural canals of heart rate central regulation were dominated at the spectrogram of 72 (87.80%) children experiencing asthma attack; more than half of patients (58.53%) had predominantly very low-frequency component (VLF%) in the range of fluctuation rate that indicated the influence of neurohumoral regulation. A significant increase in vagosympathetic balance coefficient (LF / HF) was recorded after clinooorthostatic test indicating the activation of the sympathetic nervous system. According to the correlation rhythmography data, a considerable scattering of scattergram points was detected in patients in the baseline state that indicated the predominant influence of parasympathetic nervous system. After the clinooorthostatic test, on the contrary, we observed the «tightness» of the scattergram cloud that could indicate sympathicotonia. **Conclusion:** The imbalance of the autonomic nervous system in the form of activation of the sympathetic and neurohumoral regulation department was found in children with asthma.

**Key words:** children, bronchial asthma, autonomic nervous system.

(For citation: Lebedenko A.A., Semernik O.E. Features of Vegetative Reaction in Children with Features of Autonomic Response in Children with Bronchial Asthma in the Period of Exacerbation. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 222–226. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1316)

ности парасимпатического отдела вегетативной нервной системы (ВНС). В то же время, до настоящего времени до конца не раскрыты нейрорегуляторные механизмы, лежащие в основе БА [3], поэтому для понимания патогенетических механизмов развития и прогноза течения болезни несомненно важна оценка вегетативных взаимодействий у больных БА с учетом как исходного тонуса ВНС, так и вегетативной реактивности.

Цель исследования состояла в изучении особенностей вегетативного реагирования у детей с БА в периоде обострения заболевания.

## Методы

### Дизайн исследования

Неконтролируемое исследование с прерванным временным рядом.

### Критерии соответствия

Для реализации поставленной цели были обследованы дети с приступом БА разной степени тяжести. Диагноз был верифицирован в соответствии с рекомендациями Национальной программы «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактики» [1].

Критерии включения в исследование:

- пациенты с диагнозом БА, установленным не менее чем за 6 мес до начала исследования;
- возраст от 6 до 18 лет;
- наличие симптомов бронхиальной обструкции в виде одышки, приступообразного кашля;
- объем форсированного выдоха за 1-ю секунду — 60–70% от должных значений;
- прирост пиковой скорости выдоха (ПСВ) по данным пикфлоуметрии после ингаляции бронхолитика более 12%.

Критерии исключения:

- тяжелое обострение БА, требующее применения системных глюкокортикоидов;
- наличие сопутствующей патологии сердечно-сосудистой системы;
- прием вегетокорректирующих препаратов.

### Описание медицинского вмешательства

Всем пациентам было проведено комплексное клинико-лабораторное обследование, включавшее сбор анамнеза, физикальный осмотр (пальпация, перкуссия и аускультация легких и сердца), лабораторные исследования, кардиоинтервалографию (КИГ).

### Условия проведения

Исследование проводили на базе детского отделения Ростовского государственного медицинского универси-

тета, а также педиатрического-соматического отделения детской городской больницы № 2 г. Ростова-на-Дону.

### Методы регистрации исходов

Запись КИГ осуществляли на аппарате «АНКАР-131» (Россия) в положении больного лежа в течение 5 мин, затем проводилась клиноортостатическая проба (в вертикальном положении, также в течение 5 мин).

Для корректной оценки ВНС были соблюдены следующие условия:

- обследование проводили не ранее чем через 1,5–2 ч после приема пищи;
- комната для проведения исследований была затемнена;
- температура воздуха в помещении — в пределах 20–24 °С;
- во время обследования были устранены все факторы, приводящие к эмоциональному возбуждению, в т.ч. разговоры и телефонные звонки.

Результаты КИГ были обработаны с помощью программного обеспечения аппарата «АНКАР-131».

Для оценки состояния ВНС у детей применяли спектральный анализ variability сердечного ритма (ВСР) и метод корреляционной ритмографии (скатерографии) [4–6], позволяющие количественно оценить различные частотные составляющие колебаний ритма сердца и наглядно графически представить соотношение разных компонентов, отражающих активность определенных звеньев регуляторного механизма (табл. 1).

223

### Этическая экспертиза

Исследование проводили с соблюдением этических норм, изложенных Всемирной ассоциацией медицинских редакторов (The World Association of Medical Editors, WAME). От всех родителей детей и подростков старше 15 лет было получено информированное письменное согласие на участие в исследовании, одобренное Локальным этическим комитетом Ростовского государственного медицинского университета (протокол № 11 от 12.05. 2014 г.).

### Статистический анализ

Статистическую обработку результатов исследования проводили при помощи набора прикладных программ Microsoft Office 2000 Pro for Windows OSR 2 на ЭВМ PC Intel Pentium-166 (Microsoft Office 97 Professional, 1997, США). Для статистического анализа применяли компьютерную программу STATISTICA v. 6.0 (StatSoft Inc., США). Анализ включал в себя определение средних арифметических величин, коэффициентов корреляции. Достоверность различий между группами по среднеарифметическим величинам, а также достоверность коэффициента корреляции определяли по t-критерию Стьюдента. Достоверным считали результат при  $t > 2$ , при котором  $p < 0,05$ .

Таблица 1. Показатели спектрального анализа variability сердечного ритма

Показатель	Характеристика показателя	Единицы измерения
HF	Мощность волн высокой частоты в диапазоне от 0,4 до 0,15 Гц	мс <sup>2</sup>
LF	Мощность волн низкой частоты в диапазоне от 0,15 до 0,04 Гц	мс <sup>2</sup>
VLF	Мощность волн очень низкой частоты в диапазоне от 0,04 до 0,0033 Гц	мс <sup>2</sup>
TP	Общая спектральная мощность	мс <sup>2</sup>
HF%	Относительное значение мощности волн высокой частоты	%
LF%	Относительное значение мощности волн низкой частоты	%
VLF%	Относительное значение мощности волн очень низкой частоты	%
LF/HF	Коэффициент вагосимпатического баланса	-

## Результаты

### Участники исследования

В исследовании приняли участие 82 ребенка в возрасте от 6 до 18 лет (средний возраст  $9,4 \pm 3,7$  года) с установленным диагнозом БА. Среди обследованных пациентов преобладали мальчики ( $n = 52$ ; 65%), девочек было 30 (35%).

### Основные результаты исследования

По данным проведенного нами обследования, у 72 (87,80%) детей, испытывающих приступ удушья, в спектрограмме преобладают недыхательные (медленные) волны, отражающие степень активности гуморального и нервного канала центральной регуляции сердечного ритма. Причем более чем у половины (58,53%) пациентов отмечаются преимущественно колебания ВСП в диапазоне очень низкочастотного компонента (VLF%), что характеризует гиперадаптивную реакцию детского организма, развивающуюся в ответ на бронхообструкцию.

Индивидуальный анализ спектральной мощности дыхательных волн (HF) выявил у 40 (48,78%) обследованных преобладающее влияние парасимпатического кардиоингибиторного центра продолговатого мозга, при этом значения мощности волн высокой частоты более чем у 1/3 обследованных превышали  $4500 \text{ мс}^2$ , что значительно отличается от средних абсолютных значений у здоровых детей. После клиноортостатической пробы зарегистрировано значительное снижение мощности HF-волн, что служит свидетельством уменьшения парасимпатических влияний (табл. 2).

Мощность волн низкой частоты, определяющих активность вазомоторного центра, у 35 (42,68%) пациентов была менее  $754 \text{ мс}^2$ , что говорит о развитии стрессорной реакции в организме ребенка, формирующейся в ходе патологического процесса. Проведение клиноортостатической пробы привело к усилению вазомоторных реакций, причем после окончания пробы средние значения мощности LF-волн у большинства пациентов достигали лишь  $1233,549 \pm 199,323 \text{ мс}^2$ , в то время как в исходном состоянии они были в 2 раза выше и составляли  $2874,817 \pm 454,702 \text{ мс}^2$  ( $p=0,0003$ ).

Необходимо отметить, что у 36 (43,90%) обследованных, по данным КИГ, спектральная мощность медленных волн II порядка превышала  $1200 \text{ мс}^2$ .

После проведения клиноортостатической пробы отмечалось достоверно ( $p=0,001$ ) значимое увеличение процентного содержания медленноволновой составляющей спектра, что свидетельствует о повышении активности гуморального звена и напряженности регуляторных механизмов при обеспечении функционирования организма (см. табл. 2). Это означает, что процесс регуляции виталь-

ных функций при повышении нагрузки на организм ребенка осуществляется при участии неспецифических механизмов путем активации симпатического отдела ВНС и нейрогуморального звена регуляции.

Хотя средние показатели процентного содержания высокочастотных волн, независимо от степени тяжести состояния пациентов, превышали нормальные значения (при легком приступе БА —  $28,67 \pm 14,92\%$ , при среднетяжелом —  $33,10 \pm 20,28\%$ , при тяжелом —  $25,49 \pm 18,46\%$ ), что свидетельствовало о влиянии парасимпатического отдела ВНС, более чем у 40% обследованных в спектрограмме преобладали медленные волны II порядка, характеризующие активацию неадреналин-нхолинергической системы.

Также нами была проведена оценка состояния вегетативного гомеостаза детей на основании расчета коэффициента вагосимпатического баланса (LF/HF). Поскольку LF/HF содержит информацию не только об активности автономного контура регуляции, но и о деятельности регуляторных систем более высокого порядка, управляющих многочисленными функциями целостного организма, в т.ч. и нейрогуморальными влияниями, он может быть использован как интегральный показатель процессов регуляции, оценивающий уровень адаптации организма в целом, а также функционирования ВНС как в соматическом аспекте, так и в аспекте адаптации к формирующейся острой патологии.

По результатам спектрального анализа ВСП, средние значения коэффициента LF/HF у пациентов, находившихся в периоде обострения БА, составили  $2,54 \pm 0,28$ , при этом максимальные значения достигали  $17,30$ .

Значительное преобладание медленноволновой составляющей в спектрограмме говорит о высокой стабильности сердечного ритма, характерной для повышенного тонууса симпатического отдела ВНС. Этот отдел регуляторного механизма, ответственный за экстренную мобилизацию энергетических и метаболических ресурсов при любых видах стресса, активируется через нервные и гуморальные каналы. Он является составным элементом гипоталамо-гипофизарно-адренокортикотропной системы, реализующей ответ организма на стрессорное воздействие.

Однако необходимо отметить, что индивидуальный анализ числовых значений LF/HF в группе пациентов, испытывающих приступ удушья, показал, что около 1/2 (53,66%) детей имели преобладание в КИГ высокочастотных дыхательных HF-волн, что говорит о значительном влиянии парасимпатического отдела ВНС. Поскольку именно холинергические влияния запускают основные механизмы бронхообструкции при БА, значительное увеличение числа волн HF-диапазона у обследованных больных подтверждает высокую чувствительность

**Таблица 2.** Динамика показателей спектрального анализа вариабельности сердечного ритма после проведения клиноортостатической пробы у детей в периоде обострения бронхиальной астмы

Показатели	Фоновая проба	Клиноортостатическая проба	p
HF, мс <sup>2</sup>	3948,268±1045,014	326,878±65,077	0,0008
LF, мс <sup>2</sup>	2874,817±454,702	1233,549±199,323	0,0003
VLF, мс <sup>2</sup>	2286,000±241,114	1053,390±115,685	0,0001
TP, мс <sup>2</sup>	9109,122±1528,399	2613,732±353,225	0,0003
HF%	27,424±1,866	10,868±0,940	0,0001
LF%	34,143±1,211	44,168±1,532	0,0001
VLF%	38,435±1,890	44,954±1,810	0,0004
LF/HF	2,217±0,306	6,796±0,608	0,0001

и информативность метода спектрального анализа ВСР, а коэффициент LF/HF может являться интегральным показателем, максимально точно характеризующим состояние вегетативного гомеостаза у больного ребенка. Доказательством этому служит достоверная корреляция, установленная между степенью тяжести приступа БА и коэффициентом вагосимпатического баланса ( $r=0,48$ ).

Следовательно, чем тяжелее состояние больного, тем выше значение отношения мощности волн низкой частоты к мощности волн высокой частоты, т.е. тем менее выражено влияние парасимпатического отдела ВНС. Это объяснимо с точки зрения патофизиологии бронхообструктивного синдрома, возникающего при БА: бронхоспазм, развивающийся в процессе заболевания, приводит к увеличению остаточного объема (задержке большого объема воздуха в альвеолах, бронхиолах и бронхах мелкокалибра), а, следовательно, к растяжению легких, что рефлекторно ослабляет тоническое возбуждение преганглионарных вагусных нейронов. Одновременно такое же действие на эти нейроны оказывают и клетки дыхательного центра, приводя к усилению влияния симпатического и нейрогуморального звеньев регуляции. В результате активность парасимпатического отдела снижается, а следовательно, уменьшается и спектральная мощность дыхательных волн. Подтверждением данному факту служит обратная корреляция между показателями пиковой скорости выдоха ребенка и значениями коэффициента вагосимпатического баланса ( $r = -0,22$ ).

Важно отметить, что после клиноортостатической пробы зарегистрировано значительное повышение LF/HF: средние значения при выполнении фоновой пробы составили  $2,217 \pm 0,306$ , тогда как через 5 мин после изменения положения тела они были равны  $6,796 \pm 0,608$ . Более чем трехкратное повышение значений данного коэффициента свидетельствует об увеличении активности симпатического звена регуляции, а, следовательно, о мобилизации защитных механизмов в организме ребенка при бронхообструктивном синдроме.

Наглядным подтверждением этому являются результаты проведенной корреляционной ритмографии. У пациентов в фоновом состоянии регистрируется значительный разброс точек скатерограммы, что говорит

о преобладающем влиянии парасимпатического отдела ВНС. Напротив, после проведения клиноортостатической пробы зарегистрирована «зажатость» облака скатерограммы, что может свидетельствовать о симпатикотонии (рис.).

### Обсуждение

ВНС занимает в организме человека исключительное положение. Регулируя и контролируя его функции, она оказывает существенное влияние на механизмы компенсации и адаптации к различным повреждающим факторам внешней и внутренней среды. Это определяет значение ВНС в формировании предпосылок возникновения и эволюции болезней, которые при развитии патологического процесса обеспечиваются морфофункциональной иерархией ее центральных и периферических структурных компонентов. Клиническая практика богата разнообразными примерами нарушений деятельности вегетативной системы, которые, с одной стороны, представлены самостоятельными нозологическими формами, с другой — сопутствуют многим широко распространенным заболеваниям, в т.ч. БА [4]. В настоящее время доказана связь пусковых механизмов данного заболевания с функциональными расстройствами нервной регуляции легких [5].

Нарушения вегетативного равновесия, несомненно, ведут к формированию гиперреактивности бронхов, со временем приводящей к развитию клинической симптоматики. Поскольку организм является сложной саморегулирующейся структурой, развитие БА может быть вызвано первичными нарушениями одной из вегетативных составляющих управления деятельностью легких [4–6].

Анализ данных литературы свидетельствует о несомненной роли центрального и периферического отдела ВНС не только в патогенезе развития бронхиальной обструкции, но и в обеспечении процессов адаптации дыхательной и сердечно-сосудистой системы при БА у детей [3, 5, 7].

При изучении показателей спектрального анализа ВСР было установлено снижение коэффициента ваго-

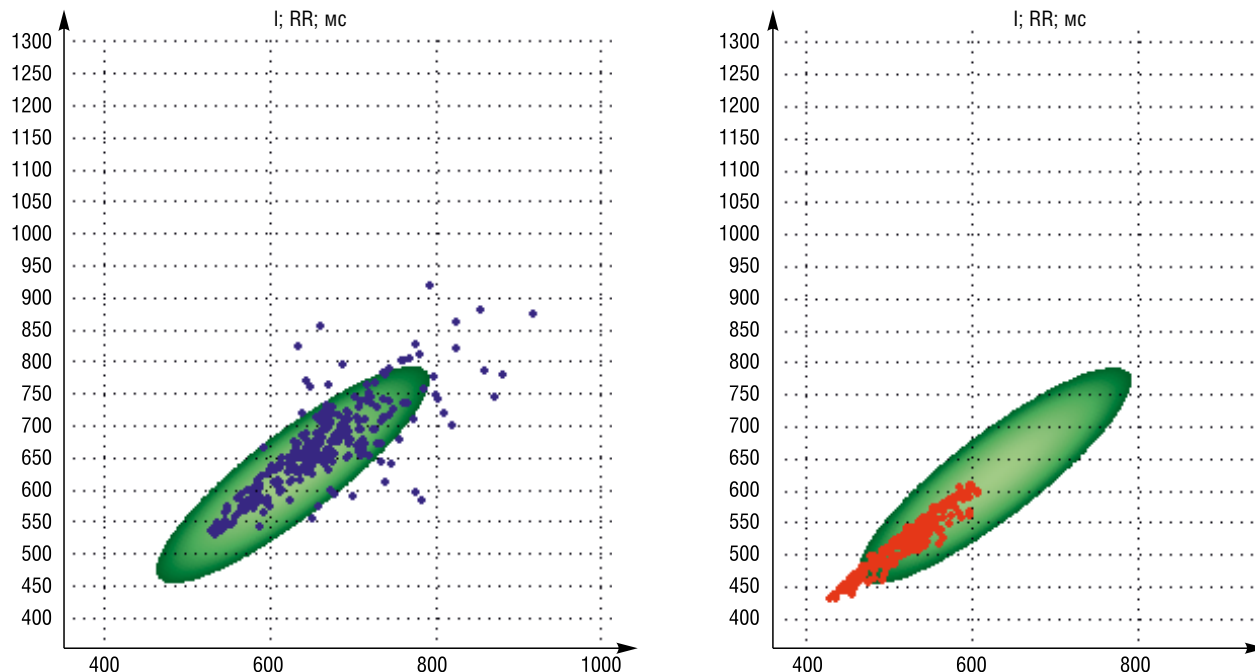


Рис. Динамика показателей скатерограммы на фоне проведения клиноортостатической пробы у больного Н. в возрасте 10 лет.



симпатического взаимодействия (LF/HF) у больных БА, что говорит о большей степени парасимпатических влияний на сердечный ритм [8]. В то же время другие исследователи считают, что в приступном периоде БА у детей отмечается дисбаланс ВНС, проявляющийся активацией симпатической нервной системы [9, 10]. Это подтверждают данные о том, что даже в условиях покоя напряжение регуляторных систем может быть чрезмерным, если человек не имеет достаточных функциональных резервов. В частности, это выражается высокой стабильностью сердечного ритма, характерной для повышенного тонуса симпатического отдела ВНС. Этот отдел регуляторного механизма, ответственный за экстренную мобилизацию энергетических и метаболических ресурсов, при любых видах стресса активируется через нервные и гуморальные каналы. Он является составным элементом гипоталамо-гипофизарно-адренокортикотропной системы, реализующей ответ организма на стрессорное воздействие. Важная роль при этом принадлежит центральной нервной системе, которая координирует и направляет все процессы в организме.

По результатам проведенных нами исследований установлено резкое повышение плотности спектра мощности в сверхнизкочастотном диапазоне, зарегистрированное у детей в периоде обострения БА, что может свидетельствовать не только об активации резервных возможностей организма, но и быть предвестником возможного перехода сердечно-сосудистой системы к катастрофическим изменениям (внезапная асистолия, фибрилляция желудочков, пароксизмальная тахикардия и др.). Следовательно, с целью профилактики кардиогемодинамических нарушений в периоде обострения БА детям необходимо проведение

углубленного контроля состояния кардиореспираторной системы.

Таким образом, соматогенно обусловленное расстройство регулирующего влияния нервной системы при бронхиальной астме создает «порочный круг», способствуя углублению нарушений ВНС и ухудшению течения заболевания. Следовательно, своевременная диагностика особенностей вегетовисцерального реагирования у каждого конкретного ребенка позволяет предотвратить возможность развития нежелательных осложнений.

### Заключение

Анализируя показатели variability сердечного ритма у детей с БА в периоде обострения заболевания после проведения клиноортостатической пробы, можно говорить о дисбалансе ВНС в виде активации нейрогуморального и симпатического отделов регуляции и подавлении парасимпатических влияний. Поскольку вегетативный дисбаланс является предиктором развития аритмогенных дисфункций, необходимо проведение динамического контроля за состоянием сердечно-сосудистой системы у таких детей в приступном периоде БА.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика. Национальная программа. М.: *Оригинал-макет*. 2012. 184 с.
2. Чучалин А.Г. Новые перспективы в терапии бронхиальной астмы. *Пульмонология*. 2011; 4: 5–11.
3. Лебеденко А.А., Семерник О.Е. Нейрогуморальные аспекты обострения бронхиальной астмы у детей. *Пульмонология*. 2013; 5: 36–39.
4. Emin O., Esra G., Aysegül D., Ufuk E., Ayhan S., Rusen D.M. Autonomic nervous system dysfunction and their relationship with disease severity in children with atopic asthma. *Res. Physiol. Neurobiol.* 2012; 183 (3): 206–210.
5. Kumar S., Babbar R., Varshney V.P., Daga M.K., Dalvi V.S. A study of autonomic nervous system status in children of asthmatic parents. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 2012; 56 (1): 74–79.
6. Raemdonck K.J. de Alba, Birrell M.A. Grace M., Maher S.A., Irvin C.G., Fozard J.R., O'Byrne P.M., Belvisi M.G. A role for sensory nerves in the late asthmatic response. *Thorax*. 2012; 67 (1): 19–25.
7. Лебеденко А.А., Семерник О.Е., Тараканова Т.Д. Спектральный анализ variability сердечного ритма — новый взгляд на проблему вегетативной дисфункции у детей с бронхиальной астмой. *Медицинский вестник Юга России*. 2013; 1: 37–41.
8. Бабунц И.В., Мириджанян Э.М., Машаек Ю.А. Азбука анализа variability сердечного ритма. *Ставрополь*. 2002. 112 с.
9. Фомина И.Г., Махнач Г.К., Затейщикова Д.А. Variability сердечного ритма у больных бронхиальной астмой. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2007; 6 (5): 42–45.
10. Фомичева Л.Ю. Состояние вегетативной регуляции у детей с тяжелым течением бронхиальной астмы. *Естественные и технические науки*. 2011; 6: 193–194.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Семерник Ольга Евгеньевна**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры детских болезней № 2 РостГМУ  
 Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29, e-mail: semernick@mail.ru

**Лебеденко Александр Анатольевич**, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой детских болезней № 2 РостГМУ  
 Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29, e-mail: semernick@mail.ru

Е.В. Бойцова<sup>1</sup>, М.А. Беляшова<sup>2</sup>, Д.Ю. Овсянников<sup>2</sup><sup>1</sup> НИИ пульмонологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Российская Федерация<sup>2</sup> Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация

## Современные представления об интерстициальных заболеваниях легких у детей

*Интерстициальные заболевания легких (ИЗЛ) — гетерогенная группа болезней, при которых в патологический процесс в первую очередь вовлекаются альвеолы и периальвеолярный интерстиций, что приводит к нарушению газообмена, рестриктивным нарушениям вентиляционной функции легких и диффузным интерстициальным изменениям, выявляемым при рентгенологическом исследовании. ИЗЛ у детей — актуальная проблема детской пульмонологии. В статье представлены современные сведения о классификации, эпидемиологии, клинической картине, диагностике, терапии и прогнозе данных редких заболеваний. Перечислены различия в структуре, патогенезе, обнаружении различных гистологических изменений при ИЗЛ у детей по сравнению со взрослыми. Приведены примеры регистров больных ИЗЛ детского возраста. Детально охарактеризованы клиническая семиотика ИЗЛ, возможные результаты объективного исследования, частота симптомов, особенности анамнестических данных, изменения, выявляемые на рентгенограммах органов грудной клетки, компьютерно-томографическая семиотика. Особое внимание уделено интерстициальным заболеваниям легких, встречающимся преимущественно у новорожденных детей и детей первых двух лет жизни, таким как наследственные дефициты белков сурфактанта, нейроэндокринная гиперплазия младенцев, легочный интерстициальный гликогеноз. Представлена диагностическая программа у детей с ИЗЛ, возможности терапии.*

**Ключевые слова:** интерстициальные заболевания легких, дети, диагностика, терапия.

**(Для цитирования:** Бойцова Е.В., Беляшова М.А., Овсянников Д.Ю. Современные представления об интерстициальных заболеваниях легких у детей. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (2): 227–236. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1317)

227

### Введение

Интерстициальные заболевания легких (ИЗЛ; синоним: диффузные заболевания легких) — гетерогенная группа болезней, при которых в патологический процесс в первую очередь вовлекаются альвеолы и периальвеолярный интерстиций, что приводит к нарушению газообмена, рестриктивным нарушениям вентиляционной функции легких и диффузным интерстициальным изменениям, обнаруживаемым при рентгенологическом исследовании [1]. Вместе с тем при ИЗЛ наряду с интер-

стицием в патологический процесс вовлекаются и другие легочные структуры (паренхима, дыхательные пути, кровеносные и лимфатические сосуды).

По мнению большинства исследователей, классификация ИЗЛ, применяемая во взрослой практике [2], не может быть использована у детей [3–5]. Признанные специалисты по ИЗЛ у детей E.L. Fan и L. Langston еще в 2002 г. опубликовали обзорную статью с красноречивым названием: «Педиатрические интерстициальные заболевания легких: дети — не маленькие взрослые» [3]. Речь идет о существенных различиях в формах, течении,

E.V. Boitsova<sup>1</sup>, M.A. Belyashova<sup>2</sup>, D.Yu. Ovsyannikov<sup>2</sup><sup>1</sup>I.P. Pavlov St. Petersburg State Medical University, Russian Federation<sup>2</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

## Modern Views on Children's Interstitial Lung Disease

*Interstitial lung diseases (ILD, diffuse lung diseases) are a heterogeneous group of diseases in which a pathological process primarily involved alveoli and perialveolar interstitium, resulting in impaired gas exchange, restrictive changes of lung ventilation function and diffuse interstitial changes detectable by X-ray. Children's interstitial lung diseases is an topical problem of pediatric pulmonology. The article presents current information about classification, epidemiology, clinical presentation, diagnostics, treatment and prognosis of these rare diseases. The article describes the differences in the structure, pathogenesis, detection of various histological changes in children's ILD compared with adult patients with ILD. Authors cite an instance of registers pediatric patients with ILD. The clinical semiotics of ILD, the possible results of objective research, the frequency of symptoms, the features of medical history, the changes detected on chest X-rays, CT semiotics described in detail. Particular attention was paid to interstitial lung diseases, occurring mainly in newborns and children during the first two years of life, such as congenital deficiencies of surfactant proteins, neuroendocrine cell hyperplasia of infancy, pulmonary interstitial glycogenosis. The diagnostic program for children's ILD, therapy options are presented in this article.*

**Key words:** interstitial lung disease, children, diagnostics, therapy.

**(For citation:** Boitsova E.V., Belyashova M.A., Ovsyannikov D.Yu. Modern Views on Children's Interstitial Lung Disease. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (2): 227–236. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1317)

а также гистологических особенностях, прогнозе ИЗЛ у детей и взрослых. Например, самая частая форма ИЗЛ у взрослых — идиопатический фиброзирующий альвеолит, или идиопатический фиброз легких, если и встречается у детей, то только в подростковом возрасте [6–8]. В свою очередь, такие формы ИЗЛ у детей, как нейроэндокринная гиперплазия младенцев и легочный интерстициальный гликогеноз, диффузные нарушения развития и роста легкого, описанные в последнее десятилетие, не свойственны взрослым [4, 5]. В детской популяции чаще удается установить этиологию болезни; для них характерны семейные формы заболеваний, а прогноз в целом лучше, чем у взрослых.

Имеются различия и в частоте обнаружения различных гистологических изменений. Так, обычная интерстициальная пневмония, идиопатический фиброзирующий альвеолит, неспецифическая интерстициальная пневмония очень редко встречаются у детей, а десквамативная интерстициальная пневмония, связанная у взрослых с положительной реакцией на стероидную терапию и хорошим прогнозом, имеет неблагоприятный исход у детей, особенно раннего возраста [3, 9, 10]. Редко встречается в младшей популяции и криптогенная организуемая пневмония (идиопатический бронхиолит с организуемой пневмонией).

Патогенез ИЗЛ также имеет существенные различия у детей и взрослых. Длительное время считалось, что ремоделирование легких является следствием длительно текущего воспаления, но в последние годы установлено, что воспаление — это важный, но не обязательный предшественник фиброзного ремоделирования, а фибрирование возможно и при отсутствии воспаления. Большое значение в патогенезе ИЗЛ придается не воспалению, а нарушению процессов восстановления нормальной легочной ткани после повреждения. Патологический процесс запускается поврежденными альвеолоцитами и характеризуется миграцией и пролиферацией фибробластов и миофибробластов, угнетением апоптоза миофибробластов и повышением активности цитокинов, стимулирующих пневмофиброз. К данным цитокинам относятся трансформирующий фактор роста  $\beta 1$ , фактор некроза опухоли  $\alpha$ , фактор роста тромбоцитов, инсулиноподобный фактор роста. В результате происходит нарушение архитектоники внеклеточного матрикса, деструкция базальной мембраны, стимуляция ангиогенеза и фиброза [1, 11, 12]. У детей раннего возраста эти процессы происходят в развивающемся легком, поэтому клиническая картина резко отличается от таковой в других возрастных группах [11, 13, 14]. Патогенез ИЗЛ у детей схематично изображен на рис. 1.

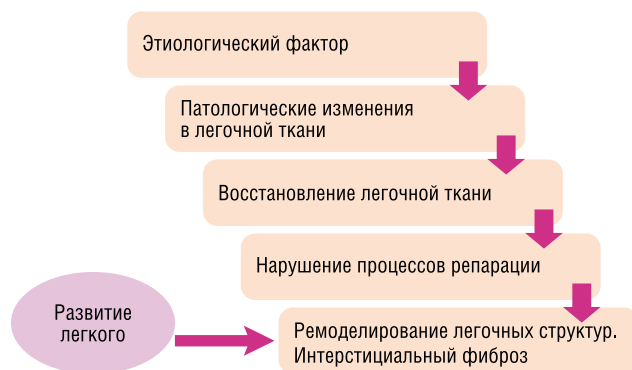


Рис. 1. Патогенез интерстициальных заболеваний легких у детей.

## Классификация

Существуют различные классификации ИЗЛ у детей [5, 15, 16]. Последняя из них была предложена экспертами Американского торакального общества (American Thoracic Society, ATS) в 2013 г. [17]. Согласно данной классификации (табл. 1), ИЗЛ у детей подразделяются на заболевания, наиболее распространенные в младенчестве, неспецифичные для младенцев, т.е. встречающиеся в любом возрасте, и неклассифицируемые случаи.

Систематизированная схема ИЗЛ у детей старшего возраста в большой степени сходна с классификацией, используемой у взрослых [15, 16].

## Эпидемиология

Интерстициальные заболевания легких являются редкой патологией: имеются лишь единичные сообщения о распространенности ИЗЛ у детей. Считается, что их истинную частоту определить очень трудно, т.к. многие случаи остаются нераспознанными вследствие сложности диагностики.

В исследовании, выполненном в Англии в 1995–1998 гг., частота ИЗЛ у детей в возрасте 0–16 лет составила 3,6 на 1 000 000, при этом в исследование не вошли больные со специфическими заболеваниями, характерными для младенцев, такими как нейроэндокринная гиперплазия, легочный интерстициальный гликогеноз, а также ИЗЛ, связанные с дефектами синтеза белков сурфактанта [17, 18].

Для оценки распространенности и структуры больных различными орфанными заболеваниями, в том числе ИЗЛ, предложено использовать регистры. Примером может служить американский регистр на основе современной классификационной схемы данных заболеваний, сформированный G.H. Deutsch и соавт. [5], либо европейский регистр ИЗЛ у иммунокомпетентных детей A. Clement и соавт. [12].

Многими исследователями отмечено, что частота ИЗЛ тесно связана с возрастом больных. По данным A. Clement и E. Eber, более 1/3 детей из 185 больных, лечившихся в европейских медицинских центрах по поводу ИЗЛ, были в возрасте младше 2 лет [11]. В США и Канаде за пятилетний период (с 1999 по 2004 г.) диагноз ИЗЛ, подтвержденный биопсией, был поставлен 187 больным в возрасте до 2 лет, из них у 68% болезнь соответствовала классификационной категории «ИЗЛ, преобладающие у младенцев» [5]. В настоящее время полагают, что ИЗЛ встречаются в любом возрасте, но у детей они не менее чем в половине случаев связаны с периодом новорожденности и первыми годами жизни.

Согласно проведенным исследованиям, эта патология чаще отмечается у мальчиков, примерное соотношение больных мальчики / девочки — 60:40 [11, 18, 19].

В детском возрасте нередко наблюдаются семейные формы ИЗЛ: по данным A. Clement и соавт., 7% детей с ИЗЛ были кровными родственниками, 10% — близнецами [11].

## Анамнез, семиотика и клиническая диагностика

Начало болезни у детей часто бывает постепенным, сопровождается незначительными симптомами, и пройдет много времени, прежде чем будет установлен правильный диагноз. Нередко ИЗЛ диагностируются в той стадии болезни, когда преобладают симптомы дыхательной недостаточности, и ремоделирование легочной ткани

Таблица 1. Схема классификации интерстициальных заболеваний легких у детей (ATS, 2013; адапт. по [17])

<b>I. ЗАБОЛЕВАНИЯ, НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫЕ В МЛАДЕНЧЕСТВЕ</b>	
<b>A. Диффузные нарушения развития легких</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ацинарная дисплазия</li> <li>2. Врожденная альвеолярно-капиллярная дисплазия</li> <li>3. Альвеолярно-капиллярная дисплазии с аномальным расположением легочных вен</li> </ol>
<b>B. Нарушения роста легких</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Легочная гипоплазия</li> <li>2. Хроническое заболевание легких у новорожденных:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>• хроническое заболевание легких, ассоциированное с недоношенностью (бронхолегочная дисплазия)</li> <li>• приобретенное хроническое заболевание легких у доношенных младенцев</li> </ul> </li> <li>3. Структурные легочные изменения, ассоциированные с хромосомными нарушениями:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>• трисомия хромосомы 21</li> <li>• другие</li> </ul> </li> <li>4. Заболевания, ассоциированные с врожденными пороками сердца у детей без хромосомных нарушений</li> </ol>
<b>C. Специфические состояния неустановленной этиологии</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Легочный интерстициальный гликогеноз</li> <li>2. Нейроэндокринная гиперплазия младенцев</li> </ol>
<b>D. Дисфункции системы сурфактанта</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Мутации гена <i>SFTPB</i> — легочный альвеолярный протеиноз (РАР) как вариант доминантного гистологического паттерна</li> <li>2. Мутации гена <i>SFTPC</i> — доминантный гистологический паттерн — хронический пневмонит младенцев (СРІ), а также десквамативная интерстициальная пневмония (DIP) и неспецифическая интерстициальная пневмония (NSIP)</li> <li>3. Мутации гена <i>ABCA3</i> — доминантный гистологический паттерн — РАР, а также СРІ, DIP и NSIP</li> <li>4. Гистологически согласующееся с расстройством белков сурфактанта, но еще неустановленное генетическое нарушение</li> </ol>
<b>II. ЗАБОЛЕВАНИЯ, НЕ СПЕЦИФИЧНЫЕ ДЛЯ МЛАДЕНЦЕВ</b>	
<b>A. Расстройства у лиц с нормальной иммунной системой</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Инфекционные и постинфекционные процессы</li> <li>2. Расстройства, связанные с агентами окружающей среды: гиперсенситивный пневмонит, ингаляции токсичных веществ</li> <li>3. Синдром аспирации</li> <li>4. Эозинофильная пневмония</li> </ol>
<b>B. Расстройства, ассоциированные с системными заболеваниями</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Иммунные заболевания</li> <li>2. Болезни накопления</li> <li>3. Саркоидоз</li> <li>4. Гистиоцитоз из клеток Лангерганса</li> <li>5. Злокачественные новообразования</li> </ol>
<b>C. Заболевания у иммунокомпрометированных пациентов</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Оппортунистические инфекции</li> <li>2. Заболевания, ассоциированные с терапевтическими воздействиями</li> <li>3. Заболевания, ассоциированные с трансплантационным синдромом и реакцией отторжения трансплантата</li> <li>4. Диффузное альвеолярное повреждение неизвестной этиологии</li> </ol>
<b>D. Заболевания, маскирующиеся под ИЗЛ</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Артериальная гипертоническая васкулопатия</li> <li>2. Застойные васкулопатии, включающие веноокклюзионные заболевания</li> <li>3. Лимфатические расстройства</li> <li>4. Вторичный венозный застой на фоне заболеваний сердца</li> </ol>
<b>III. НЕКЛАССИФИЦИРУЕМЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ</b>	
<p>Включают заболевания на терминальной стадии, недиагностируемые результаты биопсии, и биопсии с недостаточным количеством материала</p>	

уже значительно выражено [20]. Поздняя диагностика связана как с редкостью патологии, неосведомленностью клиницистов по этой группе болезней, так и с тем, что многочисленные заболевания, входящие в группу ИЗЛ, практически не имеют патогномичных симптомов.

Для диагностики нозологических форм, относящихся к ИЗЛ, большое значение имеет тщательный сбор и осмысленный анализ анамнестических данных. Начало болезни сразу после рождения с симптомов дыхательной недостаточности, особенно у детей, родившихся в срок, предполагает диффузные нарушения развития и роста легких, легочный интерстициальный гликогеноз или дефект белков сурфактанта (SP-Вили ABCA3) [16, 21, 22]. Недоношенность, врожденные пороки сердца и других органов, синдром Дауна и прочие хромосомные аномалии

ассоциируются с альвеолярной симплификацией и нарушением развития легкого как причинами имеющихся респираторных симптомов [16]. Дыхательные нарушения в первые дни и недели жизни в сочетании с врожденным или транзиторным гипотиреозом, отставанием в физическом развитии, судорожным синдромом бывают обусловлены врожденным синдромом мозг—щитовидная железа—легкие, могут быть результатом делеции или мутации гена *NKX2.1* [16, 23, 24]. Признаки бактериального или вирусного поражения в начале болезни требуют исключения инфекционной природы ИЗЛ [25, 26]. Семейный анамнез смертей в раннем детском возрасте, длительная потребность в дополнительном кислороде, наличие других детей или взрослых родственников, страдающих ИЗЛ, позволяют заподозрить генетическую природу легочной



патологии, например альвеолярно-капиллярную дисплазию, дефекты синтеза сурфактанта или нейроэндокринную гиперплазию младенцев [11, 22, 26].

О ИЗЛ следует также думать в том случае, если дети имеют установленный диагноз заболевания легких, в частности бронхиальной астмы, получают соответствующее лечение, но степень тяжести болезни не соответствует общепринятым представлениям, и лечение оказывается неэффективным. Настораживающим признаком являются повторные тяжелые эпизоды респираторных нарушений, требующие интенсивной терапии при банальной вирусной инфекции [20].

Жалобы, которые предъявляют родители детей с ИЗЛ, условно можно разделить на специфические, указывающие на поражение легких, и неспецифические, или общего характера. Классическим примером последних является жалоба на лихорадку, что может свидетельствовать об инфекционной природе ИЗЛ, в то же время необъяснимая лихорадка описана в 1/3 случаев ИЗЛ [26].

Недостаточные весовые прибавки или потеря веса характерны для ИЗЛ у детей раннего возраста и связаны обычно с анорексией, интоксикацией, затруднениями при кормлении вследствие дыхательной недостаточности, а также с высокими энергетическими затратами на работу дыхания [8, 9, 26]. Родители могут жаловаться на появление цианоза и/или потливости при кормлении, частые остановки во время сосания [20].

Жалобы на кашель предъявляют до 40–75% больных. Кашель, чаще сухой, возникает в дневное время и не мешает ребенку спать. Нередко это первый и единственный симптом болезни как у младенцев, так и у детей старшего возраста в раннем периоде заболевания [25, 26].

Тахипноэ также появляется достаточно рано и отмечается у 80% больных. Врач должен прислушаться к жалобам родителей, что ребенок «не так дышит» [12, 15, 20]. Непереносимость обычной физической нагрузки — одно из ранних проявлений болезни у детей более старшего возраста: часто симптом незаметен для родителей, но его могут наблюдать сверстники при совместных играх [20].

Свистящее дыхание тревожит родителей почти половины детей с ИЗЛ, но при тщательном анализе задокументировать этот симптом удается в 20% случаев [11, 15, 19].

Клинические осмотры демонстрируют отставание в физическом развитии и потерю веса у 1/3 пациентов, особенно у детей раннего возраста [25, 26]. Цианоз кожных покровов и утолщение фаланг пальцев по типу «бараньих палочек», как правило, наблюдаются в поздней стадии болезни.

Деформация грудной клетки, характеризующаяся как «уплощение», может свидетельствовать как о гипоплазии легкого, так и о длительном течении болезни. Воронкообразная грудная клетка — частый симптом при дефиците белка АВСА3 у детей [5, 20, 22]. При длительном течении ИЗЛ, сопровождающемся гиперинфляцией, грудная клетка может принимать бочкообразную форму.

Диспноэ обычно более выражено у детей раннего возраста и характеризуется втяжением уступчивых мест грудной клетки при дыхании, усиливается при кормлении и беспокойстве [5, 15, 26].

Диагностические возможности пальпации грудной клетки при ИЗЛ невелики; некоторое значение имеет снижение эластичности грудной клетки, связанное со снижением комплаенса, характерным для фиброзирующих процессов или гипервоздушности. Притупление перкуторного звука свидетельствует об уплотнении легочной ткани, коробочный тон — о повышении ее воздуш-

ности. Считается, что аускультация легких при ИЗЛ дает гораздо больше информации. Обычно выслушивается ослабленное везикулярное дыхание, а при сопутствующем поражении мелких дыхательных путей — жесткое [1]. Характерным аускультативным симптомом для детей с ИЗЛ является диффузная крепитация, или крепитирующие хрипы, напоминающие «треск целлофана», «хруст снега», которые чаще выслушиваются в заднебазальных сегментах легких [15, 20]. По мнению R.R. Deterding и соавт., подобные крепитирующие хрипы обычно не выслушиваются при других легочных заболеваниях, в частности при бронхиальной астме [20]. Вместе с тем диффузная крепитация типична для острого бронхоолита. Иногда выявляются разнокалиберные влажные и сухие хрипы, что свидетельствует о сопутствующем поражении воздухопроводящих дыхательных путей [1]. Отсутствие аускультативных симптомов не исключает диагноза ИЗЛ [5, 20, 26].

При оценке состояния сердечно-сосудистой системы необходимо обращать внимание на эпигастральную пульсацию, при аускультации сердца — на акцент 2-го тона, что может свидетельствовать о легочной гипертензии и формировании легочного сердца.

На рис. 2 представлены данные M.A. Paiva и S.M. Amalal о частоте симптомов у 25 иммунокомпетентных пациентов с ИЗЛ в возрасте 2 мес — 17 лет [27].

### Имидж-диагностика

Рентгенологические признаки ИЗЛ у детей в настоящее время изучены недостаточно, что связано с относительной редкостью патологии и трудностью интерпретации результатов исследования у детей, особенно раннего возраста. Рентгенологическое исследование обычно проводится на первых этапах диагностики. Типичными признаками ИЗЛ считаются симптом матового, или грунтового, стекла; ретикулярные, очаговые или ретикулярно-очаговые инфильтративные изменения и сотовое легкое; неспецифическим рентгенологическим симптомом при ИЗЛ в ряде случаев является повышение воздушности. Симптом матового стекла свидетельствует об острой стадии болезни, сотовое легкое — признак распространенного фиброза. Нормальная рентгенологическая картина не исключает диагноза ИЗЛ [12, 28].

Компьютерная томография (КТ) легких, особенно высокоразрешающей техникой, является доступным и неинвазивным методом, позволяющим детально диагностировать структурные изменения легочной ткани, их выраженность и распространенность, и считается более чувствительной по сравнению с обзорной рентгенографией органов грудной клетки [19, 29]. Так, в исследовании D.A. Lynch и соавт. при помощи КТ точный диагноз ИЗЛ был установлен в 62% случаев, при рентгенологическом исследовании — в 12%. Правильный диагноз был более вероятен при легочном альвеолярном протеинозе, лимфангиэктазии и гистиоцитозе у детей старшей возрастной группы [29].

У детей с ИЗЛ при высокоразрешающей КТ обычно обнаруживаются разнообразные изменения: участки повышенной воздушности, мозаичность легочной ткани, воздушная ловушка, симптом матового стекла, линейные и ретикулярные затенения, очаговые тени, кистозные изменения [20]. Мозаичность легочной ткани при КТ характерна для бронхоолита, визуализируется при неравномерном распространении интерстициальных изменений, легочной гипертензии, тромбоза ветвей легочной артерии и легочных сосудов [30–32].

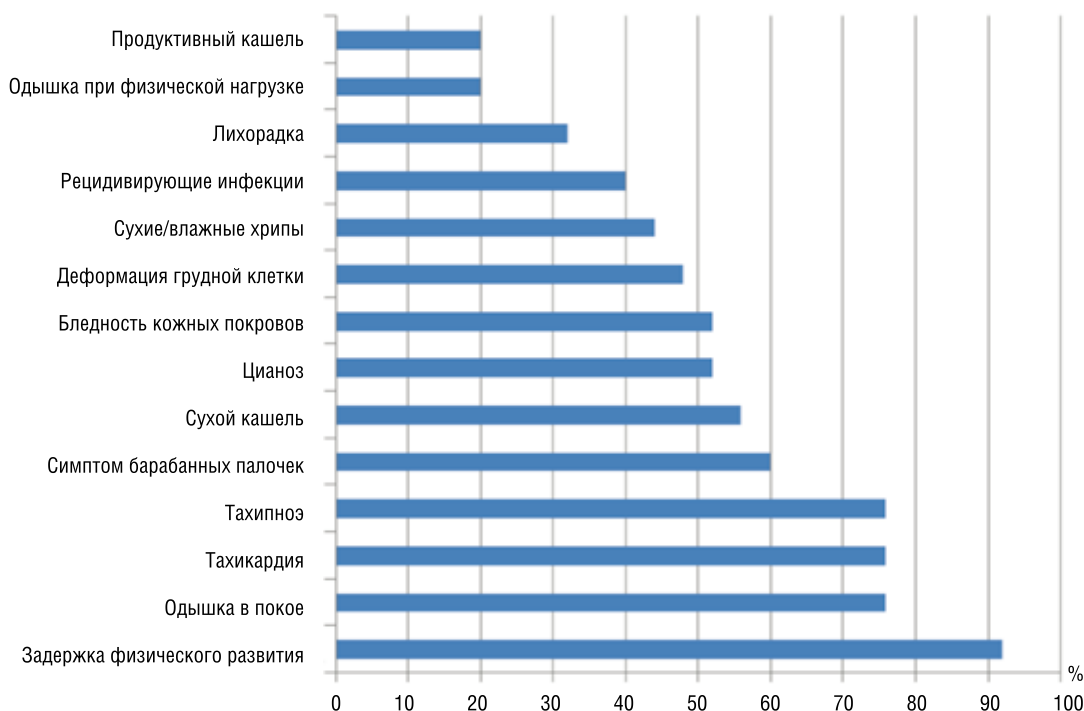


Рис. 2. Частота симптомов у детей с интерстициальными заболеваниями легких (в %; адapt. по [27]).

Участки консолидации легкого ассоциированы с инфекционной природой ИЗЛ, аспирационными поражениями, эозинофильной пневмонией, организующейся пневмонией, легочным геморрагическим синдромом.

Утолщение междольковых и внутридольковых перегородок в виде линейных или ретикулярных затенений связано с отеком, инфильтрацией или фиброзированием легочного интерстиция и отмечается при различных ИЗЛ у детей, чаще при лимфангиоматозе и лимфангиэктазии [29, 30]. Характерные изменения структуры легкого дают также нейроэндокринная гиперплазия младенцев и облитерирующий бронхиолит [16, 30, 33].

Симптом матового стекла — неспецифический КТ-признак, отражающий различные патологические изменения в легочной ткани на уровне альвеол, их неполное заполнение субстратом, — характеризуется снижением прозрачности легочной ткани с дифференцируемым рисунком сосудов и бронхов на этом фоне [34]. Этот признак типичен для инфильтративных ИЗЛ у взрослых, таких как десквамативная интерстициальная пневмония, гиперсенситивный пневмонит и лимфоцитарная интерстициальная пневмония [1]. У детей этот симптом связан с нейроэндокринной гиперплазией младенцев, нарушениями роста и развития легкого, дефектами синтеза сурфактанта [12, 16, 22]. В то же время симптом матового стекла может обнаруживаться у маленьких детей и при отсутствии морфологических изменений в легочной ткани, если исследование выполнено на выдохе или неполном вдохе. Это наиболее характерно при проведении исследования под наркозом, когда участки, имитирующие симптом матового стекла, располагаются в соответствии с гравитацией в дорсальных отделах [29, 30].

Изменение структуры легкого по типу матового стекла с уплотнением междольковых перегородок получило в англоязычной литературе название «сумасшедшая исчерченность», или симптом «бульжной мостовой» (crazy-paving): выявляемые на КТ изменения напоминают беспорядочно уложенную плитку, например на садовых дорожках. Данный симптом отражает альвеолярные из-

менения с фиброзированием междольковых перегородок и внутридолькового интерстиция [34]. Именно поэтому распространенные изменения у доношенных новорожденных первых месяцев жизни с респираторными нарушениями требуют генетического исследования для исключения дефектов белков сурфактанта [15, 22, 30].

Симптом «дерево в почках», характерный для поражения терминальных отделов бронхиального дерева, представляет собой мелкие центрилобулярные разветвленные Y- или V-образные структуры [34, 35]. Такой признак свидетельствует о сопутствующем изменении мелких дыхательных путей и обычно определяется при инфекционных поражениях, в частности при облитерирующем бронхиолите, но может быть связан и с нарушениями внутридольковых сосудистых структур [35].

Тонкостенные кистозные изменения при ИЗЛ у детей раннего возраста сопряжены с нарушениями легочного роста, дефицитом белков сурфактанта, легочным гистиоцитозом [30].

Сотовое легкое, характеризующееся множественными толстостенными кистами, свидетельствует о значительных нарушениях архитектоники легочной ткани, выраженном фиброзировании и определяется, как правило, в конечной стадии ИЗЛ [30, 36]. Причиной может стать затрудненная интерпретация изменений, что связано с маленькими размерами анализируемых анатомических структур, учащенным дыханием, невозможностью пациентов задерживать дыхание.

Кроме использования высокоразрешающей методики, для выявления воздушной ловушки и протяженности симптома матового стекла необходимо выполнить сканирование на вдохе и выдохе, которое требует сотрудничества с пациентом. Проведение исследования под общей анестезией позволяет выполнить сканирование на вдохе и выдохе, но является инвазивной процедурой и затрудняет интерпретацию в результате гиповентиляции и склонности к ателектазированию в связи с податливостью детской грудной клетки и недоразвития коллатеральной вентиляции в условиях отсутствия респираторного уси-

лия и снижения мышечного тонуса [30]. Современные технологии, использующие мягкую седатацию и контролируемую вентиляцию с помощью лицевой маски, позволяют выполнить сканирование без общей анестезии у детей с нормальным физическим развитием, начиная с шестимесячного возраста [36].

Большое значение придается КТ при планировании биопсии и оценке эффективности терапии [16, 30]. Высокоспецифичные изменения обнаруживаются на томограммах при облитерирующем бронхиолите и нейроэндокринной гиперплазии младенцев, что позволяет избежать биопсии легочной ткани [33].

Прогностическое значение имеют и рентгенологические признаки легочной гипертензии в виде гипертрофии правого желудочка сердца и расширения ствола легочной артерии, что связывают с высоким риском неблагоприятного исхода [9, 26].

В табл. 2 представлены дифференциально-диагностические, клинические, рентгенологические и КТ-признаки некоторых ИЗЛ у младенцев.

### Эхокардиография и катетеризация правых отделов сердца

Ультразвуковое исследование сердечно-сосудистой системы должно быть включено в комплекс обследования при подозрении на диффузное заболевание легких. Персистирующая легочная гипертензия у детей раннего возраста может быть признаком диффузных нарушений роста и развития легкого [15]. УЗИ необходимо при дифференциальной диагностике с заболеваниями, по многим признакам сходными с ИЗЛ, например аномальным впадением легочных вен, артериовенозными фистулами, стенозом и атрезией легочных вен. Выявление врожденных пороков сердца в сочетании с симптомами ИЗЛ предполагает нарушения развития и роста легкого и сужает диагностических поиск [30]. Диагностика легочной гипертензии и легочного сердца имеют значение для прогноза заболевания и определения лечебной тактики [9, 25].

Часть пациентов может нуждаться в проведении катетеризации правых отделов сердца для инвазивного определения давления в легочной артерии, исключения и документирования выраженности ассоциированных анатомических поражений сердца, определения системных и легочных коллатеральных сосудов, обструкции легочных вен, дисфункции левых отделов сердца [25].

### Пульсоксиметрия и исследование газов крови

Пульсоксиметрия — простой и доступный метод выявления гипоксемии. Снижение сатурации оксигемоглобина (SatO<sub>2</sub>) обычно свидетельствует о вентиляционно-перфузионном несоответствии и отражает процессы ремоделирования дистальных воздушных пространств, типичных для детских форм ИЗЛ. Для выявления начальных нарушений необходим мониторинг значений SatO<sub>2</sub> не только в состоянии покоя, но и при физической нагрузке, а также во время сна. Большинство детей с ИЗЛ имеют гипоксемию, которая проявляется признаками десатурации при пульсоксиметрии [9, 20]. Гипоксемия при физической нагрузке может стать одним из первых симптомов ИЗЛ [25, 26].

При исследовании газов артериальной крови выявляются типичные изменения — снижение парциального напряжения кислорода (PaO<sub>2</sub>) и респираторный алкалоз, связанный с гипервентиляцией. Гиперкапния — симптом, свидетельствующий о тяжелом течении болезни и далеко зашедшей структурной перестройке легочной паренхимы [12, 15].

### Исследование функции внешнего дыхания

Для анализа состояния функции внешнего дыхания (ФВД) используются спирометрия, плетизмография, определение диффузионной способности легких. Как правило, при ИЗЛ у детей старшего возраста отмечается рестриктивный вариант нарушений вентиляции, характеризующийся снижением легочных объемов и легочного COMPLAINTS [11, 12]. В случае вовлечения в процесс бронхиального дерева функциональное исследование продемонстрирует признаки нарушения бронхиальной проходимости [26]. Снижение диффузионной способности легких иногда предшествует рентгенологическим изменениям, но показатель может иметь и нормальные значения [15, 26]. Возможности исследования ФВД у детей раннего возраста в нашей стране ограничены. По литературным данным, метод флуометрии спокойного дыхания обнаруживает снижение легочного COMPLAINTS у младенцев с ИЗЛ [15].

Таблица 2. Дифференциальная диагностика детских интерстициальных заболеваний легких (адапт. по [30])

Нозология	Клинические проявления	Рентгенологические признаки	КТ-признаки
Нейроэндокринная гиперплазия младенцев	Манифестация в возрасте первых 2 лет жизни с тахипноэ, одышки, гипоксии; обычно имеет пролонгированное течение, не поддается терапии стероидами	Вздутие грудной клетки, как при остром респираторном заболевании или бронхиолите	Симптомы «мозаичной перфузии» и воздушной ловушки, затенения по типу «матового стекла» («географическая карта», или симптом «головки сыра»), наиболее заметные в средней доле правого легкого и язычковых сегментах левого легкого
Легочный интерстициальный гликогеноз	Манифестация с респираторного дистресс-синдрома новорожденных (РДСН) в раннем неонатальном периоде	Прогрессирующая гиперинфляция и переход от мелкого интерстициального к грубому интерстициальному и альвеолярному рисунку	Изменение строения легочной ткани в связи с нарушением роста легких, ретикулярные изменения, отражающие утолщение интерстиция без воспаления и фиброза; затенения по типу «матового стекла»
Врожденный дефицит сурфактантного протеина В	Летальное нарушение, проявляющееся рефрактерным к терапии РДСН; без пересадки легких — смерть в течение 1–6 мес	Диффузные гранулярные или нечеткие легочные затемнения	Диффузное затенение по типу «матового стекла», утолщение междолькового интерстиция, симптом «сумасшедшей ищущей мостовой»

### Бронхоскопия и бронхоальвеолярный лаваж

Бронхоскопическое исследование с анализом жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) считается обязательной процедурой, предшествующей легочной биопсии. Несмотря на то, что эти методы давно и широко применяются при ИЗЛ у взрослых, их диагностическое значение до сих пор точно не установлено [1].

Бронхоскопическое исследование позволяет оценить состояние слизистой оболочки и просветы бронхиального дерева, наличие и характер бронхиального содержимого. При ИЗЛ визуальная оценка состояния бронхиального дерева обычно дает мало информации. Диагностическое значение имеет метод эндоскопического исследования БАЛ [37]. Для этого выбирается сегмент с наиболее выраженными изменениями на рентгенограмме. В затруднительных случаях, когда рентгенологические изменения равномерны, стандартным местом для БАЛ являются язычковые или сегменты средней доли, из которых возврат вводимой жидкости на 20% больше, чем из нижних отделов [1].

Для изучения клеточного состава БАЛ обязательно проводят микробиологическое, вирусологическое и микологическое исследование. При подозрении на аспирационный синдром используется окраска на выявление макрофагов, содержащих жировые включения; критерием диагностики при гемосидерозе выступает наличие в БАЛ более 20% сидерофагов, при легочном альвеолярном протеинозе — ШИК-положительных гранул. Выявление в жидкости БАЛ CD1a-позитивных клеток типично для легочного гистиоцитоза [15, 16].

### Биопсия легких

Биопсия легких — метод, позволяющий поставить правильный диагноз, когда все другие возможности диагностики уже исчерпаны. Показания к этому инвазивному исследованию должны быть четко определены в связи с возможностью осложнений [24, 38]. Биопсия легких проводится детям с персистирующими респираторными симптомами в течение не менее 2 мес, имеющим прогрессирующее и жизнеугрожающее течение болезни [11]. Прижизненная биопсия при ИЗЛ может быть показана в тех случаях, когда проводимая терапия не приносит прогнозируемого результата. К сожалению, даже после биопсии у отдельных больных не удается установить правильный диагноз.

На результаты биопсии влияют используемая методика и количество полученного материала [37, 38]. Большое значение имеет выбор участка для взятия биопсийного материала. Для определения наиболее пораженного участка легких используются результаты предшествующей КТ [29, 39].

Открытая биопсия, несмотря на частые осложнения, является традиционным способом, позволяющим получить оптимальное количество материала для исследования из наиболее измененных участков легких [25, 38]. Торакоскопическая биопсия — менее инвазивная методика и может быть выполнена у младшего контингента [11, 25]. Трансбронхиальная биопсия возможна у детей старшего возраста. При сравнении диагностической ценности различных методик у детей старшего возраста диагноз был установлен в 50, 60 и 53% случаев при трансбронхиальной, торакоскопической и открытой биопсиях, соответственно [40].

Биопсийный материал должен быть исследован с помощью электронной микроскопии, вирусологическим,

микологическим, микробиологическим и иммуногистохимическим методом в соответствии с диагностической гипотезой, имеющейся в каждом конкретном случае. У детей раннего возраста используется окраска на бомбезин и виментин — специфичные реакции при нейроэндокринной гиперплазии младенцев и легочном интерстициальном гликогенозе, соответственно [33, 38].

### Диагностическая программа

Диагностика ИЗЛ — сложный процесс: диагностические подходы зависят от возраста больного, длительности болезни, иммунологического статуса, тяжести симптомов и семейного анамнеза.

Клиническое значение имеет так называемый детский ИЗЛ-синдром, который включает следующие признаки:

- респираторные симптомы (кашель, одышка, тахипноэ, непереносимость физической нагрузки);
- объективные симптомы, такие как крепитация, затруднение дыхания, втяжение уступчивых мест грудной клетки, утолщение фаланг пальцев по типу барабанных палочек;
- гипоксемия при исследовании SatO<sub>2</sub>;
- распространенные рентгенологические изменения.

Наличие 3 из 4 групп признаков при условии исключения таких заболеваний, как муковисцидоз и иммунодефицит, делает диагноз ИЗЛ весьма вероятным. Использование этого скрининга оказалось достаточно эффективным, особенно у детей раннего возраста. По данным R.R. Deterding с соавт., 3 из 4 представленных признаков отмечались в 91% всех случаев ИЗЛ (n=218), подтвержденных биопсией, у детей в возрасте до двух лет [20].

Клинические и лабораторные исследования, генетическое тестирование, рентгенологические и функциональные методы позволяют уточнить патологию, однако нередко для правильного диагноза необходима биопсия легочной ткани. В исследовании A. Varbato и соавт. использование различных способов биопсии у 131 ребенка в возрасте от 9 мес до 17 лет (средний возраст 6,5 года) позволило определиться с диагнозом у 89% из них, а использование неинвазивных методик (клинический осмотр, исследование ФВД, КТ) имело диагностическое значение только у 3,8% больных [19].

Поскольку у детей ИЗЛ нередко имеют инфекционную причину, вирусологические, микробиологические и серологические методики включаются в диагностический поиск для исключения бактериальной, микоплазменной, грибковой и паразитарной инфекции.

Иммунологическое исследование с определением уровня иммуноглобулинов (Ig), включая уровни IgE и субклассов IgG, специфических антител к вакцинальным антигенам, фракций комплемента, субклассов лимфоцитов, маркеров ревматических болезней и хлоридов пота необходимо в отдельных случаях, в том числе для проведения дифференциальной диагностики ИЗЛ с другими диффузными заболеваниями легких [41].

Генетическое тестирование необходимо для исключения дефектов синтеза белков сурфактанта, при наличии признаков тяжелого респираторного дистресса, не связанного с инфекционными причинами у доношенных младенцев, у детей с синдромом «барабанных палочек», диффузным симптомом матового стекла или признаками соевого легкого при КТ [15, 22, 26].

В последнее время большое значение в диагностике ИЗЛ придается фактору KL-6 — высокомолекулярному белку, продуцируемому альвеолоцитами 2-го типа и



клетками бронхиального эпителия. KL-6 является хемотактантом для фибробластов, его уровень особенно повышается при процессах регенерации. Изменение маркера отражает активный фибропластический процесс в интерстициальной ткани легкого: увеличивается при бронхолегочной дисплазии, коревой пневмонии, ИЗЛ, ассоциированных с ювенильным дерматомиозитом [42]. Установлено, что определение KL-6 — высокочувствительный и высокоспецифичный метод диагностики ИЗЛ у взрослых, а его уровень коррелирует с тяжестью болезни [43]. У детей диагностическое значение этого маркера изучается.

### Лечение

Не существует рандомизированных клинических исследований, позволяющих оценить терапевтические вмешательства при ИЗЛ у детей, что связано с ограниченным числом больных и невозможностью проведения плацебо-контролируемых исследований по этическим причинам. Лечебные подходы основаны на личном опыте клиницистов и исследованиях, выполненных у взрослых.

Младенцам с ИЗЛ при выписке из стационара обязательно должна проводиться оценка потребности в домашней кислородотерапии и целевого уровня SatO<sub>2</sub>. Для определения уровня SatO<sub>2</sub> следует использовать данные пульсоксиметрии, а не показатели образцов артериальной крови. При этом детям должны проводиться измерения SatO<sub>2</sub> по крайней мере в течение 6–12 ч, обязательно как во время сна, так и во время бодрствования и кормления. Нижняя граница SatO<sub>2</sub> должна быть зарегистрирована как минимум в течение 95% времени всей продолжительности записи показателей. Нет необходимости контролировать уровень CO<sub>2</sub> в домашних условиях.

В настоящее время не существует четких данных о целевых уровнях SatO<sub>2</sub> у детей с ИЗЛ, однако считается, что необходимо поддерживать концентрацию более 93%, у пациентов с легочной гипертензией — более 94–95% [44].

При гипоксемии используется длительная кислородотерапия, которая может продолжаться месяцы и годы [45]. Решение о необходимости проведения домашней кислородотерапии должны принимать педиатры стационарного звена, а не участковые врачи. Пациентам, у которых обнаруживается снижение уровня SatO<sub>2</sub> лишь на короткое время, кислородные концентраторы не требуются. Портативные концентраторы кислорода необходимы детям, у которых отмечаются десатурации как в ночное, так и в дневное время.

Предпочтительно использование низкой скорости потока, но не рекомендуется очень низкая скорость. Дети могут быть выписаны из отделений, когда их потребность в кислороде стабильна (средняя SatO<sub>2</sub> >93%) и отсутствуют частые эпизоды десатурации. Обычно это соответствует потоку кислорода 0,5 л/мин [44].

Множество детей с ИЗЛ требуют проведения длительной кислородотерапии. По данным целевой группы Европейского респираторного общества по хроническим ИЗЛ, из всех детей с ИЗЛ длительная оксигенотерапия проводилась 26% из них, а 55% она была необходима до возраста 2 лет жизни. Невозможно осуществить рандомизированное контролируемое исследование по оценке домашней кислородотерапии у детей с ИЗЛ, отсюда и низкий уровень доказательной базы. Однако в действительности необходимо рекомендовать домашнюю оксигенотерапию детям с ИЗЛ, не нуждающимся в стационаре, но имеющим потребность в дополнительном кислороде [12].

Необходимо адекватное питание (с учетом затрат на работу дыхания) для коррекции потери веса. Затруднения

при питании, связанные с одышкой, могут потребовать зондового питания или гастростомы. Важное значение имеет профилактика гастроэзофагеального рефлюкса и аспирации желудочного содержимого, что часто имеет место у младенцев с ИЗЛ [11, 15, 20].

Необходима минимизация вредных воздействий окружающей среды, в частности пассивного курения и воздушных загрязнителей.

Определенные формы ИЗЛ не требуют специфической терапии, не имеют прогрессирующего течения и заканчиваются спонтанным выздоровлением.

Главная терапевтическая концепция при ИЗЛ у детей в любом возрасте — супрессия воспаления и замедление/остановка процессов фиброобразования легочной ткани. С этой целью используется противовоспалительная, иммуносупрессивная и антифибротическая терапия, продолжающаяся в течение многих месяцев/лет [3, 11, 15]. Препаратами первого выбора при большинстве форм ИЗЛ являются кортикостероиды, которые используют внутрь в начальной дозе 1–2 мг/кг в сут или внутривенно в виде пульс-терапии в дозе 10–30 мг/кг в сут в течение 3 дней с интервалом 1 мес. Длительность терапии составляет не менее 8–12 нед, затем при достижении эффекта доза уменьшается; лечение продолжается длительный период.

По мнению A. Clement и соавт., метилпреднизолон — более эффективный препарат и его можно использовать при отсутствии эффекта от других кортикостероидов [26].

Альтернативой стероидам являются цитостатики, которые могут оказать лечебный эффект при резистентности к стероидам. Возможно сочетание стероидной и цитотоксической терапии [45–47]. D.M. Rosen с соавт. опубликовал результаты успешного лечения ребенка с дефицитом SP-C гидрохлорином, что, возможно, связано с тем, что кроме противовоспалительного действия он ингибирует внутриклеточный процессинг предшественника SP-C, оказывающего патологическое действие [48].

В исследовании, выполненном у взрослых больных с десквамативной интерстициальной пневмонией, отмечен положительный эффект терапии макролидным антибиотиком кларитромицином [49]. Лечение макролидами считается многообещающим, так как они обладают противовоспалительным и иммуномодулирующим эффектом; интерес представляет также способность макролидов накапливаться в клетках эпителия и фагоцитах [26].

В настоящее время при определенных формах ИЗЛ у детей, таких как диффузные нарушения развития и роста, дефекты синтеза белков сурфактанта, единственной возможностью продлить жизнь больных является легочная трансплантация [22, 50]. В исследовании C.V. Huddleston и соавт. показано, что выживаемость детей раннего возраста после трансплантации легкого в течение 1 года составила 77%, трех- и пятилетняя выживаемость — 63 и 54%, соответственно, независимо от формы патологии и длительности болезни до операции [51].

### Прогноз

Прогноз болезни зависит от этиологии ИЗЛ. Формы ИЗЛ, характерные для детей раннего возраста, такие как нейрэндокринная гиперплазия младенцев и легочный интерстициальный гликогеноз, имеют благоприятный прогноз, не требуют специального лечения и заканчиваются выздоровлением. Болезни, связанные с врожденным дефицитом белков сурфактанта, могут иметь неблагоприятный прогноз для жизни в неонатальном периоде; в других случаях больные могут длительное время иметь

Таблица 3. Оценка тяжести при детских интерстициальных заболеваниях легких [25]

Степень тяжести	Симптомы	Гипоксемия (SatO <sub>2</sub> <90%) во сне или при физической нагрузке	Гипоксемия (SatO <sub>2</sub> <90%) в покое	Легочная гипертензия
1	Нет	Нет	Нет	Нет
2	Да	Нет	Нет	Нет
3	Да	Да	Нет	Нет
4	Да	Да	Да	Нет
5	Да	Да	Да	Да

минимальные симптомы и дожить до взрослого возраста [14, 15, 33]. Прогностически неблагоприятное течение ИЗЛ установлено при диффузных нарушениях роста и развития легкого [16, 26].

По данным L.L. Fun и соавт., наблюдавших 99 детей с ИЗЛ на протяжении 15 лет, выживаемость в течение 24, 48 и 60 мес от начала симптомов зафиксирована, соответственно, у 83, 73 и 64%. Средняя продолжительность жизни от начала болезни составила 47 мес. Неблагоприятный исход был связан с наличием легочной гипертензии, гипоксемией в покое, гистологическими признаками десквамативной интерстициальной пневмонии и легочным васкулитом [37]. С учетом полученных данных о неблагоприятных прогностических факторах ИЗЛ у детей предложена шкала оценки тяжести данных заболеваний (табл. 3).

По данным L.L. Fun и соавт., 60-месячная выживаемость пациентов, находящихся на 2, 3, 4-й ступенях заболевания, составила 76%, на 5-й ступени — только 38% [25]. Легочная гипертензия — неблагоприятный прогностический фактор у детей с ИЗЛ. Частота легочной гипертензии (по данным ЭхоКГ и/или катетеризации сердца) среди детей с ИЗЛ составляет 42% [8], что сопоставимо с

частотой легочной гипертензии у взрослых пациентов с идиопатическим легочным фиброзом (32–39%) [52].

**Заключение**

ИЗЛ у детей в настоящее время не являются казуистикой, а прогноз у подобных пациентов далеко не всегда неблагоприятен. Для врача необходима соответствующая «диагностическая настороженность»: умение выделить характерные клинические признаки, правильно интерпретировать симптомы хронической дыхательной недостаточности с развитием кислородозависимости у детей с крепитацией и диффузными изменениями на рентгенограммах. Это позволит при рациональном применении соответствующих методов обследования своевременно распознать ИЗЛ, скрывающиеся под «маской» пневмонии у большого числа больных.

**Конфликт интересов**

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

**ЛИТЕРАТУРА**

- Интерстициальные заболевания легких. Рук-во для врачей. Под ред. М.М. Ильковича, А.Н. Кокосова. СПб.: Нормедиздат. 2005. 560 с.
- Капустина В.А., Овчаренко С.И. Эволюция классификации интерстициальных заболеваний легких. Что нового дает пересмотр классификации 2012 года (по результатам XXII конгресса Европейского респираторного общества). *Consilium-Medicum*. 2013; 3: 24–29.
- Fan E.L., Langston L. Pediatric Interstitial Lung Disease. Children Are Not Small Adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2002; 165: 1466–1467.
- Bush A. Paediatric interstitial lung disease: not just kids stuff. *Eur. Respir. J*. 2004; 24: 521–523.
- Deutsch G.H., Young L.R., Deterding R.R., Fan L.L., Dell S.D., Bean J.A., Brody A.S. Diffuse lung disease in young children: application of a novel classification scheme. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2007; 176 (11): 1120–1128.
- Sharief N., Crawford O.F., Dinwiddie R. Fibrosing alveolitis and desquamative interstitial pneumonitis. *Pediatr. Pulmonol*. 1994; 17: 359–365.
- Nicholson A.G., Kim H., Corrin B., Bush A., du Bois R.M., Rosenthal M., Sheppard M.N. The value of classifying interstitial pneumonitis in childhood according to defined histological patterns. *Histopathology*. 1998; 33: 203–211.
- Fan L.L., Mullen A.L., Brugman S.M., Inscore S.C., Parks D.P., White C.W. Clinical spectrum of chronic interstitial lung disease in children. *J. Pediatr*. 1992; 121: 867–872.
- Fan L.L., Kozinetz C.A. Factors influencing survival in children with chronic interstitial lung disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 1997; 156: 939–942.
- Gasser S.W., Hardie W.D., Hagoood J.S. Pathogenesis of interstitial disease in children and adult. *Pediatr. Allergy Immunol. Pulmonol*. 2010; 23 (1): 9–14.
- Clement A., Eber E. Interstitial lung diseases in infants and children. *Eur. Respir. J*. 2008; 31 (3): 658–666.
- Clement A. Task force on chronic interstitial lung disease in immunocompetent children. *Eur. Respir. J*. 2004; 24 (4): 686–697.
- Clement A., Henrion-Caude A., Fauroux B. The pathogenesis of interstitial lung diseases in children. *Pediatr Respir Rev*. 2004; 5 (2): 94–97.
- Das S., Langston C., Fan L.L. Interstitial lung disease in children. *Curr. Opin. Pediatr*. 2011; 23 (3): 325–331.
- Paiva M.A., Amaral S.M. Chronic interstitial lung diseases in children. *J. Bras. Pneumol*. 2009; 35 (8): 792–803.
- Deterding R.R. Infants and young children with children's interstitial lung disease. *Pediatr. Allergy Immunol. Pulmonol*. 2010; 23 (1): 23–31.
- Kurland G., Deterding R.R., Hagoood J.S., Young L.R., Brody A.S., Castile R.G., Dell S., Fan L.L., Hamvas A. An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline: Classification, Evaluation, and Management of Childhood Interstitial Lung Disease in Infancy. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2013; 188 (3): 376–394.
- Dinwiddie R., Sharief N., Crawford O. Idiopathic interstitial pneumonitis in children: a national survey in the United Kingdom and Ireland. *Pediatr. Pulmonol*. 2002; 34 (1): 23–29.
- Barbato A., Panizzolo C., Cracco A., de Blic J., Dinwiddie R., Zach M. Interstitial lung disease in children: a multicentre survey on diagnostic approach. *Eur. Respir. J*. 2000; 16 (3): 509–513.

20. Deterding R.R., Brody A.S., Hagood J.S., Young L.R. Round table discussion: children's interstitial lung diseases. *Pediatr. Allergy Immunol. Pulmonol.* 2010; 23 (1): 91–95.
21. Eulmesekian P., Cutz E., Parvez B., Bohn D., Adatia I. Alveolar capillary dysplasia: a six-year single center experience. *J. Perinat. Med.* 2005; 33: 347–352.
22. Овсянников Д.Ю., Беляшова М.А., Крушельницкий А.А., Альхававша А.А., Бойцова Е.В. Врожденный дефицит сурфактанта: генетика, патология, диагностика, терапия. *Вопросы диагностики в педиатрии.* 2013; 5 (1): 12–20.
23. Willemsen M.A., Breedveld G.J., Wouda S., Otten B.J., Yntema J.L., Lammens M., de Vries B.B. Brain-thyroid-lung syndrome: a patient with a severe multi-system disorder due to a de novo mutation in the thyroid transcription factor 1 gene. *Eur. J. Pediatr.* 2005; 164: 28–30.
24. Беляшова М.А., Овсянников Д.Ю. Синдром мозг–легкие–щитовидная железа. *Педиатрическая фармакология.* 2014; 11 (6): 56–61.
25. Fan L.L., Kozinetz C.A., Deterding R.R., Brugman S.M. Evaluation of a diagnostic approach to pediatric interstitial lung disease. *Pediatrics.* 1998; 101: 82–85.
26. Clement A., Nathan N., Epau R., Fauroux B., Corvol H. Interstitial lung disease in children. *Orphanet J. Rare Diseases.* 2010; 5 (22): 1–24.
27. Paiva M.A., Amaral S.M. Chronic interstitial lung disease in children. *J. Pediatr.* 2007; 83 (3): 233–240.
28. Copley S.J., Coren M., Nicholson A.G., Rubens M.B., Bush A., Hansell D.M. Diagnostic accuracy of thin-section CT and chest radiography of pediatric interstitial lung disease. *Am. J. Roentgenol.* 2000; 174 (2): 549–554.
29. Lynch D.A., Hay T., Newell J.D. Jr, Divgi V.D., Fan L.L. Pediatric diffuse lung disease: diagnosis and classification using high-resolution CT. *Am. J. Roentgenol.* 1999; 173 (3): 713–718.
30. Guillermin R.P. Imaging of Childhood Interstitial Lung Disease. *Pediatr. Allergy Immunol. Pulmonol.* 2010; 23 (1): 43–69.
31. Brody A.S. Imaging considerations: interstitial lung disease in children. *Radiol. Clin. North Am.* 2005; 43: 391–403.
32. Garcia-Peña P., Lucaya J. HRCT in children: technique and indications. *Eur. Radiol.* 2004; 14 (Suppl. 4): 13–30.
33. Овсянников Д.Ю., Беляшова М.А., Зайцева Н.О., Авакян А.А., Крушельницкий А.А., Петрук Н.И., Жданова О.И., Дегтярёва Е.А. Редкое интерстициальное заболевание легких — нейроэндокринная гиперплазия младенцев. *Педиатрия.* 2013; 3: 32–37.
34. Котляров П.М. Общая семиотика диффузных заболеваний легких по данным компьютерной томографии высокого разрешения. *Радиология — практика.* 2003; 3: 38–44.
35. MacDonald S., Müller N.L. Insights from HRCT: how they affect the management of diffuse parenchymal lung disease. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 24: 357–364.
36. Mayo J.R. CT evaluation of diffuse infiltrative lung disease: dose considerations and optimal technique. *J. Thorac. Imaging.* 2009; 24: 252–259.
37. Fan L.L., Lung M.C., Wagener J.S. The diagnostic value of bronchoalveolar lavage in immunocomplement children with chronic diffuse pulmonary infiltrates. *Pediatr. Pulmonol.* 1997; 23 (1): 8–13.
38. Dislop M.D. Diagnostic pathology of diffuse lung disease in children. *Pediatr. Allergy Immunol. Pulmonol.* 2010; 23 (1): 69–84.
39. Langston C., Patterson K., Dishop M.K., Askin F., Baker P. A protocol for the handling of tissue obtained by operative lung biopsy: recommendations of the child pathology co-operative group. *Pediatr. Dev. Pathol.* 2006; 9 (3): 173–180.
40. Fan L.L., Kozinetz C.A., Wojtczak H.A., Chatfield B.A., Cohen A.H., Rotenberg S.S. Diagnostic value of transbronchial, thoracoscopic and open lung biopsy in immunocomplement children with interstitial lung disease. *J. Pediatr.* 1997; 131 (4): 556–559.
41. Bush A., Nicholson A.G. Interstitial lung disease. In: A. Bush, J.C. Davies (eds.). An Atlas of Investigation and Management. Pediatric Respiratory Disease. Parenchymal Diseases. *Clinical Pub. Serv.* 2011. P. 37–50.
42. Satoh H., Kurishima K., Ishikawa H., Ohtsuka M. Increased levels of KL-6 and subsequent mortality in patients with interstitial lung diseases. *J. Intern. Med.* 2006; 260 (5): 429–434.
43. Al-Salmi Q.A., Walter J.N., Colasurdo G.N., Sockrider M.M., Smith E.O., Takahashi H., Fan L.L. Serum KL-6 and surfactant proteins A and D in pediatric interstitial lung disease. *Chest.* 2005; 127 (1): 403–407.
44. Balfour-Lynn I.M., Field D.J., Gringras P. BTS guidelines for home oxygen in children. *Thorax.* 2009; 64 (Suppl. 2): 1–26.
45. Balfour-Lynn I.M., Primhak R.A., Shaw B.N. Home oxygen for children: who, how and when? *Thorax.* 2005; 60 (1): 76–81.
46. Avital A., Godfrey S., Maayan C., Diamant Y., Springer C. Chloroquine treatment of interstitial lung disease in children. *Pediatr. Pulmonol.* 1994; 18 (6): 356–360.
47. Balasubramanian N., Murphy A., O'Sullivan J., O'Connell E.J. Familial interstitial lung disease in children: response to chloroquine treatment in one sibling with desquamative interstitial pneumonitis. *Pediatr. Pulmonol.* 1997; 23 (1): 55–61.
48. Rosen D.M., Waltz D.A. Hydroxychloroquine and surfactant protein C deficiency. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352 (2): 207–208.
49. Knyazhitskiy A., Masson R.G., Corkey R., Joiner J. Beneficial response to macrolide antibiotic in a patient with desquamative interstitial pneumonia refractory to corticosteroid therapy. *Chest.* 2008; 134 (1): 185–187.
50. Mallory G.B., Spray T.L. Paediatric lung transplantation. *Eur. Respir. J.* 2004; 24 (5): 839–845.
51. Huddleston C.B., Sweet S.C., Mallory G.B., Hamvas A., Mendeloff E.N. Lung transplantation in very young infants. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1999; 118 (5): 796–804.
52. Lettieri C.J., Nathan S.D., Barnett S.D., Ahmad S., Shorr A.F. Prevalence and outcomes of pulmonary arterial hypertension in advanced idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest.* 2006; 129: 746–752.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Бойцова Евгения Викторовна**, доктор медицинских наук, руководитель лаборатории детской пульмонологии НИИ пульмонологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова.

Адрес: 199111, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, д. 12, e-mail: evboitsova@mail.ru

**Беляшова Мария Александровна**, клинический ординатор, лаборант кафедры педиатрии Российского университета дружбы народов

Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, тел.: +7 (499) 236-11-52, e-mail: belyashova@gmail.com

**Овсянников Дмитрий Юрьевич**, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой педиатрии Российского университета дружбы народов

Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, тел.: +7 (499) 236-11-52, e-mail: mdovsyannikov@yahoo.com

## Сероводород как третья эссенциальная газовая молекула живых тканей

*Представлены данные зарубежных исследователей за последние 15 лет, посвященные эндогенному биосинтезу и биологической роли сероводорода в микромолярных количествах, который дополнил уже два известных газотрансмиттера — OH и NO. Несмотря на незначительный период со дня открытия физиологических свойств сероводорода (около 20 лет), установлено, что этот газотрансмиттер играет ключевую роль в регуляции нервной (нейронная передача сигнала), сердечно-сосудистой (расслабление гладких мышц), иммунной (противовоспалительный и цитопротекторный агент) сенсорной, желудочно-кишечной (выход инсулина) системы, а также в метаболизме различных органов. В настоящее время ведется изучение роли  $H_2S$  в патогенезе различных заболеваний (нейродегенеративные болезни, сахарный диабет, сердечная недостаточность). Перспективными являются разработки по созданию препаратов, которые выступают либо в качестве экзогенных доноров  $H_2S$ , либо в роли блокаторов биосинтеза  $H_2S$ . С учетом того факта, что  $H_2S$  является представителем несинаптического способа межклеточной коммуникации, основанного на диффузии молекул неорганических соединений по межклеточному пространству во всех направлениях и действию на отдаленные от их места образования несинаптические рецепторы, предлагается строго дозированно использовать и экзогенный  $H_2S$  для лечения ряда заболеваний человека.*

**Ключевые слова:** газовые трансмиттеры, сероводород, биологические эффекты, перспективы лечебного применения.

**(Для цитирования:** Колесников С.И., **Власов Б.Я.**, Колесникова Л.И. Сероводород как третья эссенциальная газовая молекула живых тканей. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 237–241. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1318)

### Введение

В последнее время не вызывает сомнения существование, помимо синаптической формы передачи информации (от нейрона к нейрону или от нейрона к эффекторной клетке), другого способа ее передачи — с участием газовых молекул, к которым относят оксид азота (NO), оксид углерода (CO), а в последнее время — и сероводород ( $H_2S$ ) [1]. Эти летучие неорганические соединения, в отличие от других биологически активных молекул, легко проникают через мембраны любых клеток, не связываются ни с какими рецепторами на поверхности клетки, а взаимодействуют непосредственно с внутриклеточными

белками [2]. Среди известных к настоящему времени метаболических регуляторов такого рода  $H_2S$  наименее изучен [3].

Непосредственные исследования биологического действия сероводорода начались на рубеже XX в., но посвящены они были преимущественно изучению токсических свойств сероводорода [4], токсичность которого в 5 раз выше, чем у угарного газа (CO). Рассматривать сероводород в качестве сигнальной молекулы, которая не только является токсическим агентом, но и участвует в регуляции функциональной активности различных клеток животного организма, стали только в конце XX в. Начало исследованиям в этой области положили японские иссле-

S.I. Kolesnikov, **B.Ya. Vlasov**, L.I. Kolesnikova

Scientific Center of the Problems of Family Health and Human Reproduction, Irkutsk, Russian Federation

## Hydrogen as a Third Essential Gas Molecule in Living Tissues

*The data of foreign studies over the last 15 years devoted to endogenous synthesis and biological role of hydrogen sulfide in micromolar quantities which complemented the already two well-known gas transmitters — OH and NO are presented in this review. Despite the short period since the physiological properties of hydrogen sulfide were opened (about 20 years) it was found that this gas transmitter plays a key role in the regulation of nerve (neural signal transmission), cardiovascular (relaxation of smooth muscles), immune (anti-inflammatory and cytoprotective agent) sensory, gastrointestinal (output of insulin) systems and in the metabolism of various organs. Currently the role of  $H_2S$  in the pathogenesis of different diseases, neurodegenerative diseases, diabetes, heart failure) is being studying. The developments of drugs that act as either exogenous donors  $H_2S$  or blockers of the biosynthesis of  $H_2S$  are promising. With consideration the fact that  $H_2S$  is a representative of non-synaptic way of intercellular communication based on diffusion of molecules of inorganic compounds in the intercellular space in all directions and effect on distant from their place of formation non-synaptic receptors it is suggested to use exogenous  $H_2S$  in strict proportion for the treatment of a number of human diseases.*

**Key words:** gas transmitters, hydrogen sulfide, biological effects, the prospects for medical application.

**(For citation:** Kolesnikov S.I., **Vlasov B.Ya.**, Kolesnikova L.I. Hydrogen as a Third Essential Gas Molecule in Living Tissues. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 237–241. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1318)



дователи К. Abe и Н. Kimura, которые в 1996 г. впервые описали возможность синтеза сероводорода в тканях головного мозга и указали на его способность регулировать функции клеток [5].

Хотя сероводород был обнаружен в тканях головного мозга еще в 1980-х гг., первоначально его сочли за артефакт, который образовался вследствие быстрого повышения концентрации сульфидов в тканях после смерти. При этом появление сероводорода связывали с его высвобождением из дисульфидных соединений серы (так называемых sulfane sulfur) во время препарирования тканей [6].

В настоящее время сероводород, как и NO и CO, отнесен к группе так называемых газотрансмиттеров — газообразных внутриклеточных сигнальных молекул, выполняющих в клетке специфические регуляторные функции. H<sub>2</sub>S хорошо растворяется в липофильных веществах [1]. Его растворимость в липидах в 5 раз превосходит растворимость в воде, что обуславливает хорошую проникающую способность H<sub>2</sub>S через мембранные структуры клетки и не требует участия специальных ионтранспортных систем. Константа проницаемости (P<sub>M</sub>) сероводорода через бислоиные липидные мембраны достаточно высока и составляет 0,5±0,4 см/с (для сравнения, P<sub>M</sub> для кислорода составляет примерно 0,0050±0,0006 см/с) [7]. Это позволяет считать сероводород высокодоступной молекулой, эффективно осуществляющей свои функции внутри клеток. В организме человека и животных высокие концентрации сероводорода присутствуют в кишечнике благодаря бактериям, утилизирующим сульфаты и серосодержащие аминокислоты (цистеин, метионин), а также серосодержащие вещества, полисахариды и липиды [8]. Физиологические концентрации сероводорода варьируют в различных органах и составляют 1–100 нмоль/г ткани [9]. При высокой концентрации (более 1,0 мг/л) однократное вдыхание H<sub>2</sub>S может вызвать мгновенную смерть [4].

### Биосинтез сероводорода

Внутриклеточный синтез сероводорода осуществляется в различных клетках животного организма. В настоящее время известно 3 фермента, в результате работы которых синтезируется сероводород: цистотионин-β-синтаза (CBS), цистотионин-γ-лиаза (CSE) и 3-меркаптопируват-сульфуртрансфераза (3MST). При этом CBS осуществляет синтез сероводорода преимущественно в нервных клетках. В гладкомышечных клетках кровеносных сосудов, сокращение и расслабление которых обеспечивает изменение тонуса последних, синтез сероводорода осуществляет фермент CSE [10, 11], а в эндотелиальных клетках, выстилающих изнутри просвет сосуда, — 3MST [12, 13].

Все 3 фермента используют в качестве субстрата для синтеза сероводорода серосодержащую аминокислоту L-цистеин, катализируя реакцию его десульфидгидратации: происходит отщепление от цистеина атома серы без последующего его окисления, что ведет к образованию H<sub>2</sub>S. Под действием CSE происходит преобразование цистина (дисульфид цистеин) до тиоцистеина, пирувата и аммиака с последующим неферментативным преобразованием тиоцистеина до цистеина и H<sub>2</sub>S. В то же время CBS использует несколько другой путь синтеза H<sub>2</sub>S, который заключается в конденсации гомоцистеина с цистеином и последующем образовании цистатионина [10]. В качестве субстрата синтеза сероводорода могут использоваться и другие серосодержащие аминокислоты, такие как метионин и цистин.

Фермент 3MST функционирует в комплексе с другим ферментом — цистениаминотрансферазой (CAT). Выделяют митохондриальную и цитозольную форму CAT. Используя в качестве субстрата серосодержащую аминокислоту L-цистеин и α-кетоглутарат, CAT продуцирует 3-меркаптопируват (3MP), из которого при участии фермента 3MST синтезируется непосредственно H<sub>2</sub>S [14]. В отсутствие α-кетоглутарата синтез H<sub>2</sub>S прекращается.

### Биологические эффекты сероводорода

H<sub>2</sub>S как газотрансмиттер проникает через мембраны клеток без помощи специфических транспортных молекул. В микромолярных концентрациях H<sub>2</sub>S, полученный *in vitro* из Na<sub>2</sub>S или NaHS [15, 16], обладает цитопротекторными свойствами, которые могут быть связаны с его способностью нейтрализовать различные активные формы молекул (например, пероксинитриты, хлорноватистая кислота и гомоцистеин). Действие H<sub>2</sub>S связано с модуляцией функционирования внутриклеточных каспаз или киназ (p-38, c-JUN N-терминал протеинкиназа 1/2, ERK1/2, PI3K), активацией ядерного фактора —  $\kappa$ B и  $\kappa$ B-зависимых белков (индуцибельная NO-синтаза, циклооксигеназа-2, межклеточная адгезивная молекула-1), а также со снижением антиапоптотического фактора Bcl-2 [2].

В организме H<sub>2</sub>S стимулирует антиоксидантную систему наряду с известными антиоксидантами (в т.ч. с N-ацетилцистеином, глутатионом и супероксиддисмутазой) и оказывает цитопротекторное действие [15]. Угнетение эндогенного синтеза H<sub>2</sub>S увеличивает цитотоксическое воздействие на клетки организма экзогенного H<sub>2</sub>S.

Установлено, что эндогенный H<sub>2</sub>S необходим для защиты почек от травм и дисфункций при ишемии/реперфузии, а введение NaHS уменьшает степень возникновения дизрегуляций и морфологических изменений почек [2]. В то же время высокие миллимолярные концентрации H<sub>2</sub>S оказывают цитотоксическое действие на клетки, приводя к активации свободнорадикальных процессов, мобилизации кальция, истощению глутатиона, внутриклеточному высвобождению железа, а также индукции путей митохондриальной клеточной гибели.

В нейронах H<sub>2</sub>S способствует синтезу циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) путем активации аденилатциклазы и цАМФ-зависимых реакций [17], содействует индукции LPT (усиление передачи сигнала между нейронами) в гиппокампе, в центральной нервной системе посредством активации N-метил-D-аспартат-рецепторов (NMDA) [6], регулирующих окислительно-восстановительные процессы и принимающих участие в нейротрансмиссии [18].

В астроцитах и глии H<sub>2</sub>S увеличивает внутриклеточную концентрацию Ca<sup>2+</sup> [17]. Он может регулировать синаптическую активность путем модулирования активности нейронов и глии [19]. Увеличение внеклеточной концентрации калия при возбуждении нейронов приводит к деполяризации астроцитов и активации электрогенных котранспортеров — бикарбоната натрия (Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Активация котранспортеров приводит к повышению внутриклеточного pH в астроцитах. Как и для других газотрансмиттеров, для H<sub>2</sub>S нет селективного рецептора, отвечающего за его биологические эффекты.

Гемопротеины являются ключевыми молекулярными объектами, принимающими участие в газовом транспорте, накоплении, взаимодействии и индикации газов. Они имеют широкий диапазон лигандов, в т.ч. CO [20],

NO [21] и H<sub>2</sub>S [22]. Связывание лиганда с гемом и диссоциация этого комплекса формируют конкурирующие способности между этими газами.

Гемопротеины выполняют 4 главные функции: транспортную, электронно-транспортную, окислительно-восстановительную и сенсорную.

Транспортная функция гемопротеинов связана с переносом кислорода гемоглобином. Окислительно-восстановительные реакции происходят в каталитических сайтах специфических ферментов. Железо гема активируется кислородом и формирует высоковалентное состояние. Ферменты, которые катализируют реакции кислород—субстрат, относятся к оксигеназам (например, гемоксигеназа, HO, NO-синтаза). Гемовые группы передают сигнал в функциональный сайт протеина. Примерами данных ферментов являются CBS и гуанилатциклаза. Ингибиторы гуанилатциклазы не влияют на способность H<sub>2</sub>S ослаблять кровеносные сосуды, поэтому действие H<sub>2</sub>S не зависит от данного фермента. Ковалентно связанный H<sub>2</sub>S с гемом *in vitro* модулирует гемсодержащие ферменты [23]. Сигнальный механизм NO связан с процессом нитрозолирования — модификации, при которой нитрозольные группы посттрансляционно присоединяются к протеинам. Помимо процесса S-нитрозолирования существует еще один процесс тиольной модификации цистеина — S-сульфгидрация. С помощью масс-спектрометрического анализа установлено, что присоединение дополнительной серы к тиоловым группам (SH) цистеина приводит к образованию гидроперсульфида (SSH). Таким образом, сигнальный механизм H<sub>2</sub>S связан с сульфгидрацией [22].

Процесс S-сульфгидрации в отличие от S-тиоляции (образование смешанных дисульфидных белков с глутатионом), которая блокирует тиоловые группы протеинов, приводит к образованию SSH-групп и увеличивает химическую реактивность. β-Тубулин, актин и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа — пример базальных сульфгидрированных протеинов. Их сульфгидрация проходит при физиологических уровнях L-цистеина (0,6–1 мкмоль/л) с максимальной стимуляцией. Нитрозолирование *GAPDH* снижает его каталитическую активность, тогда как H<sub>2</sub>S, синтезированный из L-цистеина CSE, вызывает повышение его активности. Кроме того, сульфгидрация способствует полимеризации актина, не влияя при этом на его деполимеризацию [22].

H<sub>2</sub>S препятствует апоптозу полиморфно-ядерных клеток путем ингибирования белка p38 каспазы 3 [22]. Ионы HS продлевают время жизни гранулоцитов (за исключением лимфоцитов и ацидофильных гранулоцитов), а также нейтрофилов, ускоряя протекание воспалительных процессов и предупреждая развитие новых. H<sub>2</sub>S участвует в реакциях, продуктами метаболизма которых являются пер- и полисульфиды. Связывание сульфида с гемом или миоглобином приводит к образованию сульфгемом или сульфмиоглобина. H<sub>2</sub>S регулирует клеточные пути сигнальной трансдукции [24], приводя к изменениям экспрессии различных генов и их продуктов, в т.ч. тиоредоксинредуктазы и интерлейкина 1β.

Снижение синтеза H<sub>2</sub>S было продемонстрировано в ходе исследования сосудов у спонтанно гипертензивных крыс при экспериментальной сформированной гипоксии путем блокады NO-синтазы, а также при индуцированной легочной гипертензии. Введение экзогенного донора H<sub>2</sub>S вызывало выраженный терапевтический эффект в данных модельных объектах.

Как показали многочисленные исследования, одной из систем, где сероводород играет ключевую роль как сиг-

нальная молекула, является сердечно-сосудистая система, в частности кровеносные сосуды. Осуществляя свое регуляторное действие в сосудах артериального русла, он принимает активное участие в регуляции артериального давления [25–28].

Исследования на людях позволили установить, что в группе лиц с нормальными показателями артериального давления концентрация H<sub>2</sub>S в плазме крови составляла 34 мкМ, тогда как у больных артериальной гипертензией его содержание было снижено до 20 мкМ. Назначение больным артериальной гипертензией ингаляций сероводорода способствовало снижению показателей артериального давления [29]. При проведении исследований на крысах обнаружили, что внутривенное болюсное введение раствора сероводорода вызывало у них дозозависимое снижение артериального давления [10].

В условиях *in vitro* донор сероводорода гидросульфид натрия (NaHS), активно используемый в экспериментальной практике, также вызывал расслабление различных отделов артериального и венозного русла: грудной, мезентериальной, почечной артерии, аорты, воротной вены и т.д. Несмотря на существенную роль эндотелия в регуляции сосудистого тонуса, его удаление не оказывало существенного влияния на эффекты сероводорода в гладкомышечных клетках [10]. Это свидетельствует о прямом влиянии сероводорода на гладкомышечные клетки через присущие им регуляторные механизмы. Расслабляющее действие сероводорода на гладкомышечные клетки преимущественно связано с открыванием особых структур в их мембране — калиевых каналов, чувствительных к концентрации внутриклеточного источника энергии — аденозинтрифосфата (АТФ) [30, 31].

Связываясь с серосодержащими группами белков этих каналов, сероводород изменяет их пространственную конфигурацию и тем самым способствует открытию каналов [13, 20, 32]. Открытие калиевых каналов ведет к увеличению выхода ионов калия из клетки в межклеточное пространство. В то же время активация АТФ-чувствительных калиевых каналов сопровождается инактивацией потенциалчувствительных кальциевых каналов L-типа, обеспечивающих поступление ионов кальция (Ca<sup>2+</sup>) в клетку. Высокая внутриклеточная концентрация Ca<sup>2+</sup> является необходимым условием развития сократительного ответа со стороны мышечной клетки. Закрывание кальциевых каналов способствует снижению концентрации свободного внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> [29]. Эти процессы в совокупности запускают механизмы расслабления в гладкомышечных клетках, что, в конечном итоге, приводит к снижению тонуса кровеносных сосудов и артериального давления в целом [33, 34].

## Заключение

Приведенные данные свидетельствуют о важной роли H<sub>2</sub>S в процессах внутриклеточного метаболизма и осуществлении контроля над фундаментальными клеточными процессами. Подводя итог, следует отметить, что эта сигнальная молекула играет важную роль в регуляции нервной (процессы нейронной передачи сигнала), сердечно-сосудистой (расслабление гладких мышц), иммунной (противовоспалительный и цитопротекторный агент), сенсорной, желудочно-кишечной (выход инсулина) системы, а также в метаболизме в различных органах. В настоящее время ведется изучение роли H<sub>2</sub>S в патогенезе разных заболеваний (нейродегенеративные болезни, сахарный диабет, сердечная недостаточность)

[13]. Перспективными являются разработки по созданию препаратов, которые выступают либо в качестве экзогенных доноров H<sub>2</sub>S, либо в роли блокаторов биосинтеза H<sub>2</sub>S [31]. С учетом того, что H<sub>2</sub>S является представителем несинаптического способа межклеточной коммуникации, основанного на диффузии молекул неорганических соединений по межклеточному пространству во всех направлениях и действии на отдаленные от их места образования несинаптические рецепторы, предлагается строго дозировано использовать и экзогенный H<sub>2</sub>S для лечения ряда заболеваний животных и человека [2, 19, 35–38].

### Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (№ НШ-5646.2014.7).

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

- Wang R. Signal transduction and the gasotransmitters: NO, CO and H<sub>2</sub>S in biology and medicine. *Totowa: Humana Press*. 2004. 392 p.
- Tripatara P., Patel N.S., Collino M., Gallicchio M., Kieswich J., Castiglia S. Generation of endogenous hydrogen sulfide by cystathionine gamma-lyase limits renal ischemia/reperfusion injury and dysfunction. *Lab. Invest.* 2008; 88: 1038–1048.
- Carsten A.W. Hydrogen sulfide: a new gaseous signal molecule and blood pressure regulator. *J. Nephrol.* 2009; 22: 173–176.
- Fiorucci S., Distrutti E., Cirino G., Wallace J.L. The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. *J. Gastroenterol.* 2006; 131: 259–271.
- Abe K., Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J. Neurosci.* 1996; 16: 1066–1071.
- Kimura Y., Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *FASEB J.* 2004; 18: 1165–1167.
- Mathaia J.C., Missnerb A., Ku P. et al. No facilitator required for membrane transport of hydrogen sulfide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009; 106: 16633–16638.
- Li L., Moore P.K. Putative biological roles of hydrogen sulfide in health and disease: a breath of not so fresh air? *Trends Pharmacol. Sci.* 2008; 29: 84–90.
- Reiffenstein R.J., Hulbert W.C. Toxicology of hydrogen sulfide. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1992; 32: 109–134.
- Lowicka E., Beltowski J. Hydrogen sulfide — the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol. Reports.* 2007; 59: 4–24.
- Wagner C.A. Hydrogen sulfide: a new gaseous signal molecule and blood pressure regulator. *J. Nephrol.* 2009; 22: 173–176.
- Kamoun P. Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals. *Amino Acids.* 2004; 26: 243–254.
- Stipanuk M.H., Beck P.W. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphydration in liver and kidney of the rat. *Biochem. J.* 1982; 206: 267–277.
- Shibuya N., Milkanai Y., Kimura Y., Nagahara N., Kimura H. Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces hydrogen sulfide. *J. Biochem. Adv. Access.* 2009; 146: 623–626.
- Whiteman M., Armstrong J.S., Chu S.H., Jia-Ling S., Wong B.S., Cheung N.S., Halliwell B. The novel neuromodulator hydrogen sulfide: an endogenous peroxynitrite «scavenger»? *J. Neurochem.* 2004; 90: 765–768.
- Yan S.K., Chang T., Wang H., Wu L., Wang R., Meng Q.H. Effects of hydrogen sulfide on homocysteine-induced oxidative stress in vascular smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 361: 485–491.
- Rinaldi L., Gobbi G., Pambianco M., Micheloni C., Mirandola P., Vitale M. Hydrogen sulfide prevents apoptosis of human PMN via inhibition of p38 and caspase 3. *Lab. Invest.* 2006; 86: 391–397.
- Qu K., Lee S. W., Bian J.S., Low, C.M.; Wong, P.T. Hydrogen sulfide: neurochemistry and neurobiology. *Neurochem. Int.* 2008; 52: 155–165.
- Kimura H., Nagai Y., Umemura K., Kimura Y. Physiological roles of hydrogen sulfide: Synaptic modulation, neuroprotection, and smooth muscle relaxation. *Antioxid. Redox. Signal.* 2005; 7: 795–803.
- Antonini E., Brunori M. Hemoglobin and myoglobin in their reactions with ligands. *Amsterdam: North-Holland Publishing.* 1971. 393 p.
- Yonetani T., Tsuneshige A., Zhou Y., Chen X. Electron paramagnetic resonance and oxygen binding studies of anitrosyl hemoglobin: a novel oxygen carrier having NO assisted allosteric functions. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 20323–20333.
- Mustafa A.K., Gadalla M.M., Snyder S.H. Signaling by gasotransmitters. *Sci. Signal.* 2009; 2: 2.
- Hill B.C., Woon T.C., Nicholls P., Peterson J., Greenwood C., Thomson A.J. Interactions of sulphide and other ligands with cytochrome c oxidase. An electron paramagnetic resonance study. *Biochem. J.* 1984; 224: 591–600.
- Yang G., Cao K., Wu L., Wang R. Cystathionine γ-lyase overexpression inhibits cell proliferation via a H<sub>2</sub>S-dependent modulation of ERK1/2 phosphorylation and p21Cip/WAK-1. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 49199–49205.
- Beltowski J. Hydrogen sulfide as a biologically active mediator in the cardiovascular system. *Postepy. Hig. Med. Dosw.* 2004; 58: 285–291.
- Geng B., Yang J., Qi Y., Zhao J., Peng Y., Du J., Tang C. H<sub>2</sub>S generated by heart in rat and its effects on cardiac function. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004; 313: 362–368.
- Smith R.P. A short history of hydrogen sulfide. *American Scientist.* 2010; 98: 6.
- Skovgaard N., Gouliaev A., Aalling M., Simonsen U. The Role of Endogenous H<sub>2</sub>S in Cardiovascular Physiology. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2011; 12: 1385–1393.
- Wang R. Hydrogen sulfide: the third gasotransmitter in biology and medicine. *Antioxid. Redox. Signal.* 2010; 12: 1061–1064.
- John L.W. Physiological and pathophysiological roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract. *Antiox. Redox. Signal.* 2010; 12: 1125–1133.
- Wang R. Two's company, three's a crowd: can H<sub>2</sub>S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J.* 2002; 16: 1792–1798.
- Jang G., Wu L., Liang W., Wang R. Direct stimulation of K (ATP) channels by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells. *Mol. Pharmacol.* 2005; 68: 1757–1817.
- Zhao W., Wang R. H<sub>2</sub>S induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2002; 283: 474–480.
- Zhao W., Zhang J., Lu Y., Wang R. The vasorelaxant effect of H<sub>2</sub>S as a novel endogenous gaseous K (ATP) channel opener. *EMBO J.* 2001; 20: 6008–6016.
- Lavu M., Bhushan S., Lefler D.J. Hydrogen sulfide-mediated cardioprotection: mechanisms and therapeutic protection. *Clin. Sci.* 2011; 120: 219–229.

36. Nakao A., Sugimoto R., Billiar T. R., McCurry K. R. Therapeutic antioxidant medical gas. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2009; 44: 1–13.
37. Wei G., Ze-yu C., Yi-zhun Z. Hydrogen sulfide and translational medicine. *Acta Pharmacol. Sinica.* 2013; 34: 1284–1291.
38. Warena M.W., Steele J.A., Karpinski E., Reiffenstein R.J. Hydrogen sulfide in combination with taurine or cysteic acid reversibly abolishes sodium currents in neuroblastoma cells. *Neurotoxicology.* 1989; 10: 191–199.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Колесников Сергей Иванович**, доктор медицинских наук, академик РАН, главный научный сотрудник НЦ ПЗСРЧ, заслуженный деятель науки РФ

**Адрес:** 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, **тел.:** +7 (3952) 20-76 36, **e-mail:** sikolesnikov2012@gmail.com

**Власов Борис Яковлевич**, доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы НЦ ПЗСРЧ

**Адрес:** 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, **тел.:** +7 (3952) 20-76-36, 20-73-67, **e-mail:** vlasov.vlabor@yandex.ru

**Колесникова Любовь Ильинична**, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, директор НЦ ПЗСРЧ

**Адрес:** 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, **тел.:** +7 (3952) 20-76-36, **e-mail:** iphr@sbamsr.irk.ru



## Печень и ее лимфатический регион при воздействиях бенз[а]пирена в эксперименте

Бенз[а]пирен (БаП) — широко распространенный в окружающей среде токсикант, обладающий канцерогенной активностью. БаП подвергается метаболической активации в системе микросомных монооксигеназ печени, а ее регионарные лимфатические узлы выступают в роли периферических фильтров, очищающих образующуюся в печени лимфу. Остается открытым вопрос о значимости интегральной работы печени и лимфатической системы в обеспечении процессов адаптации и резистентности к воздействиям БаП. **Цель исследования:** изучить структурно-метаболические изменения в печени и ее лимфатическом регионе у самцов крыс линии Wistar массой 180–220 г. **Методы:** животным опытной группы (n=20) ежедневно в течение 3 сут проводили инъекции БаП внутривентрально по 2 мг на 100 г веса тела в 0,2–0,3 мл оливкового масла. Крысы контрольной группы (n=20) получали в таком же режиме инъекции оливкового масла. Выполняли морфометрическое исследование светооптических препаратов и электроннограмм печени, морфометрический анализ ее регионарных лимфатических узлов. Об интенсивности перекисного окисления липидов в печени судили по числу диеновых конъюгатов (ДК), кетотриеновых конъюгатов (КТ) и малонового диальдегида (МДА). **Результаты:** при воздействии БаП происходит синхронное увеличение относительной площади печеночных синусоидов и удельной площади синусной системы регионарных лимфатических узлов. На ультраструктурном уровне отмечена дилатация пространств Диссе, заполнение их клеточным детритом пучками коллагеновых волокон. В гепатоцитах обнаружены повреждения ядерного аппарата, баллонообразные расширения профилей гранулярного эндоплазматического ретикулума, наблюдалось конденсирование митохондриального матрикса. В регионарных лимфатических узлах возросли относительные размеры В-зависимых зон и уменьшилась удельная площадь Т-зависимой паракортикальной зоны. Выявлено повышение содержания КТ и МДА в печени. **Заключение:** воздействие бенз[а]пирена приводит к развитию взаимосвязанного каскада реакций в печени и ее лимфатическом регионе: нарушению организации гематолимфатического барьера, изменению корней лимфатической системы в печени, затруднению оттока лимфы от органа. Это способствует развитию тканевой гипоксии и апоптоза, нарушению белковосинтетического и энергетического аппаратов клеток, образованию временных скоплений лимфоидной ткани в печени.

**Ключевые слова:** бенз[а]пирен, печень, пространство Диссе, лимфатические узлы, кетотриеновые конъюгаты, малоновый диальдегид.

(Для цитирования: Мичурина С.В., Бородин Ю.И., Колесников С.И., Ищенко И.Ю., Коненков В.И. Печень и ее лимфатический регион при воздействиях бенз[а]пирена в эксперименте. Вестник РАМН. 2015; 70 (2): 242–248. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1319)

S.V. Michurina<sup>1</sup>, Yu.I. Borodin<sup>1</sup>, S.I. Kolesnikov<sup>2</sup>, I.Yu. Ischenko<sup>1</sup>, V.I. Konenkov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> The Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>2</sup> The Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation

## Liver and Its Lymph Region at Benzo[a]pyrene Effects in an Experiment

**Background:** Benzo[a]pyrene (BaP) is the widespread environmental toxicant with carcinogenic activity. BaP undergoes metabolic activation in the liver microsomal monooxygenase system, and its regional lymph nodes act as peripheral filters, purifying lymph formed in the liver. It remains an open question about the significance of the integral liver and lymphatic system work in supporting processes of adaptation and resistance to the BaP effects. **Objective:** The purpose of our investigation was to study structural and metabolic changes in the liver and its lymph region in males Wistar rats weighing 180–220 g. **Methods:** Animals of the experimental group (n=20) daily for 3 days was performed BaP injections: intraperitoneal with 2 mg per 100 g of body weight in 0.2–0.3 ml of olive oil. Rats in the control group (n=20) received in the same mode of injection of olive oil. The light and electron microscopy morphometric study of the liver and its regional lymph nodes morphometric analysis were performed. The intensity of lipid peroxidation in the liver was measured by the number of diene conjugates (DC), ketotriene conjugates (KC) and malondialdehyde (MDA). **Results:** Simultaneous increase of the hepatic sinusoids relative area and the specific area of the regional lymph nodes sinus system under the BaP effect was found. At ultrastructural level dilatation of the Disse spaces, filling of cell detritus and collagen fibers bundles of these spaces were noted. Damage of nuclear apparatus, balloon transformation of granular endoplasmic reticulum profiles were found in hepatocytes, condensation of the mitochondrial matrix was observed. The relative squares of B-dependent zones increased and T-dependent paracortical zone reduced in the regional lymph nodes. The increase in the content of KC and MDA in liver was identified. **Conclusion:** benzo[a]pyrene causes interrelated cascade of reactions in the liver and in its lymphatic region: a disturbance of the blood-lymph barrier morphological organization, and so obstruction of the lymphatic drainage from the organ. These promotes development of tissue hypoxia and apoptosis, protein synthesizing and energy cell apparatus disruptions, formation of lymphoid tissue temporary infiltrates in the liver.

**Key words:** benzo[a]pyrene, liver, the hematic-lymphatic barrier, Disse space, lymph nodes, ketotriene conjugates and malonil dialdehyde.

(For citation: Michurina S.V., Borodin Yu. I., Kolesnikov S.I., Ischenko I.Yu., Konenkov V.I. Liver and Its Lymph Region at Benzo[a]pyrene Effects in an Experiment. Vestnik Rossijskoj Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 70 (2): 242–248. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1319)

## Обоснование

Бенз[а]пирен (БаП) — широко распространенный в окружающей среде полициклический ароматический углеводород (ПАУ), обладающий канцерогенной активностью. Основными источниками БаП являются дымы различного происхождения, выхлопы транспорта, табачный дым, пыль, продукты копчения и т.д. [1–3].

БаП, как гидрофобный ксенобиотик, проходит один из этапов ферментативной конверсии в водорастворимые метаболиты в эндоплазматических мембранах гепатоцитов. Печень и лимфатическая система участвуют в реализации многих гомеостатических процессов, поскольку в печени образуется более 50% всей лимфы организма [4], а ее регионарные лимфатические узлы выступают в роли периферических фильтров, очищающих образующуюся в печени лимфу.

Ю.И. Бородиным [4] сформулировано понятие лимфатического региона как морфофункциональной единицы, включающей в себя транспортную и детоксикационную составляющую. Он охватывает регионарный лимфатический аппарат органа (части тела) и бассейн его лимфосбора. В лимфатическом регионе выделяют 3 звена лимфатического дренажа: интерстициальные несосудистые пути массопереноса из перичеллюлярного пространства к корням лимфатического русла, лимфатические сосуды (капилляры, посткапилляры, сосуды) и регионарные лимфатические узлы. Русло несосудистой микроциркуляции печени устроено достаточно сложно и состоит как минимум из 2 каскадов: пространства Диссе и перипортального пространства Малла.

Однако роль и взаимоотношения этих каскадов изучены недостаточно, и комплексных исследований влияния БаП на морфологические особенности печени и лимфатической системы ранее не проводилось, что и определило цель нашего исследования: изучить структурно-метаболические изменения в печени и ее лимфатическом регионе при воздействиях БаП (как нагрузочного токсического теста) на крыс.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено экспериментальное рандомизированное (рандомизация методом случайной выборки) контролируемое исследование.

### Методы регистрации исходов

Для светооптического исследования кусочки печени и целые лимфатические узлы фиксировали в 10% формалине (рН =7,4), обезжовивали в серии спиртов и заключали в гистомикс (БиоВитрум, Россия). Полученные срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином. Морфометрический анализ срезов печени проводили при помощи стереометрического метода точечного счета с использованием закрытой тестовой системы при увеличении в 1000 раз. На гистологических препаратах, полученных от каждого животного, исследовали по 100 полей зрения. Определяли долю площади (%), занимаемой кровеносными капиллярами и синусоидными клетками (гетерогенная клеточная популяция, состоящая из эндотелиоцитов, клеток Купфера, клеток Ито и рiт-клеток), цитоплазмой и ядрами гепатоцитов. В регионарных лимфатических узлах определяли долю площади (%), занимаемую корковым и мозговым веществом, краевым и мозговыми синусами, паракортикальной зоной, первичными и вторичными лимфоидными узелками, гер-

минативными центрами, мозговыми тяжами, численную плотность лимфоидных узелков с центрами размножения и рассчитывали корково-мозговой индекс.

Для электронно-микроскопических исследований образцы печени фиксировали в 4% параформальдегиде на 0,1 М фосфатном буфере (рН =7,4) с последующей дофиксацией в 1% OsO<sub>4</sub>, обезжовивали и заключали в эпон-812. Срезы толщиной 35–45 нм получали на ультратоме LEICA TM UC7 (Германия), контрастировали водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали на электронном микроскопе JEOL JEM-1400 (Япония). В эндотелиоцитах и клетках Купфера оценивали поверхностную плотность внутренних мембран митохондрий (мкм<sup>2</sup>/мкм<sup>3</sup>). В гепатоцитах определяли объемные плотности митохондрий и гранулярного эндоплазматического ретикулула (ГЭР; мкм<sup>3</sup>). На каждом этапе наблюдений измеряли до 30 профилей срезов клеток.

Об интенсивности перекисного окисления липидов в печени судили по числу диеновых конъюгатов (ДК), кетотриеновых конъюгатов (КТ) и малонового диальдегида (МДА) [5]. Содержание ДК (нмоль/мг белка) оценивали по характерному для них поглощению при 233 нм, КТ — при 275 нм; содержание МДА (нмоль/мг белка) определяли в цельном гомогенате по реакции с тиобарбитуровой кислотой.

### Этическая экспертиза

Эксперименты были выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

Результаты исследования одобрены к публикации Этическим комитетом НИИ клинической и экспериментальной лимфологии г. Новосибирска (протокол № 109 от 30.04.2015).

### Статистический анализ

Статистическую обработку полученных результатов производили с использованием пакета программ STATISTICA v. 6 (StatSoft Inc., США) с подсчетом средних арифметических величин (M) и их стандартных ошибок (m). Значимость различий оценивали по критерию Стьюдента; различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

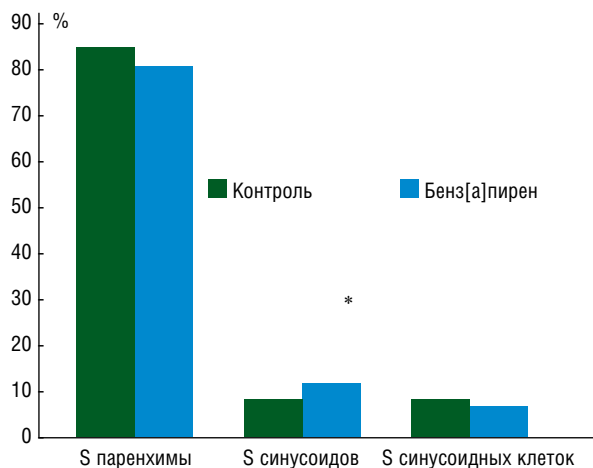
### Объект исследования

Исследование выполнено на половозрелых самцах крыс линии Wistar в возрасте 2 мес массой 180–220 г, содержащихся в стандартных условиях. Животных распределили на 2 группы: контрольную и опытную. Крысам опытной группы ( $n = 20$ ) ежедневно в течение 3 сут в 10 утра проводили инъекции БаП внутривентрально по 20 мг/кг массы тела (либо по 2 мг на 100 г веса тела) в минимальном объеме оливкового масла (0,2–0,3 мл). Крысы контрольной группы ( $n = 20$ ) получали в таком же режиме инъекции оливкового масла. Гибели животных во время эксперимента не было. На следующий день после последней инъекции животных умерщвляли под эфирным наркозом и производили взятие образцов печени и ее регионарных лимфатических узлов для морфологических и биохимических исследований.

### Морфологические изменения в печени при введениях БаП

Воздействия БаП приводят к развитию застойных явлений в междольковых артериях и венах, а также в лимфа-

тических капиллярах, располагающихся преимущественно параллельно кровеносным сосудам. По расширенным тканевым щелям внутريدольковой соединительной ткани и лимфатическим сосудам происходит миграция лимфоидных элементов и макрофагов, приводящая к образованию периваскулярных инфильтратов (лимфоидных узелков), которые рассматриваются как временные скопления лимфоидной ткани [4] или нелимфоидные агрегаты [6], формирующиеся в ответ на повреждение. Возрастает площадь кровеносных синусоидных капилляров (рис. 1). Печеночные балки сохранены, но отмечается гибель отдельных гепатоцитов.



**Рис. 1.** Морфометрические показатели площади различных компартментов тканевого микрорайона печени самцов крыс при воздействии бенз[а]пирена.

*Примечание.* S — относительная площадь,  $M \pm m$  в %, \* — различие статистически достоверно при  $p < 0,05$ .

На ультраструктурном уровне воздействия БаП приводят к повреждению ядерного аппарата паренхиматозных и синусоидных клеток, внутриклеточных органелл, межклеточных контактов, а в ряде случаев — и к разрушению клеток (рис. 2а). Пространства Диссе становятся дилатированными, заполняются слабоосмиофильным мелкодисперсным веществом, нередко — клеточным детритом, миелоноподобными структурами, пучками новообразованных коллагеновых волокон, что затрудняет диффузию веществ из кровеносных синусоидных капилляров через пространство Диссе к клеткам печени и препятствует току лимфы (рис. 2 а–в).

В эндотелиальных клетках при введении токсиканта наблюдается снижение поверхностной плотности внутренних мембран митохондрий до  $1,580 \pm 0,130 \text{ мкм}^2/\text{мкм}^3$  по сравнению с контролем ( $2,580 \pm 0,520 \text{ мкм}^2/\text{мкм}^3$ ).

Воздействия БаП приводят к выраженной стимуляции образования коллагена в печени (см. рис. 2б). В качестве индукторов фиброгенеза могут выступать продукты распада гепатоцитов, в т.ч. липоперекиси мембран повреждаемых клеток. Ранее нами было показано, что в печени крыс самцов определяется большое число клеток Ито, находящихся в состоянии активации, характеризующихся потерей запасов витамина А и развитым гранулярным эндоплазматическим ретикулулом (ГЭР) [7].

В клетках Купфера при воздействиях БаП происходит снижение поверхностной плотности внутренних мембран митохондрий до  $2,800 \pm 0,200 \text{ мкм}^2/\text{мкм}^3$  по сравнению с контролем ( $3,900 \pm 0,500 \text{ мкм}^2/\text{мкм}^3$ ), определяются многочисленные вторичные лизосомы и клеточный детрит (см. рис. 2в).

Митохондрии гепатоцитов при воздействиях БаП как бы конденсируются: происходит уплотнение их матрикса, в котором часто видны укрупненные интрамитохондриальные гранулы (рис. 2г, 3а, 3в, 3г). Объемная плотность митохондрий гепатоцитов снижается и составляет  $15,500 \pm 0,600 \text{ мкм}^3$  (по сравнению с контролем  $19,980 \pm 1,750 \text{ мкм}^3$ ), что свидетельствует о недостаточности их функции. В цитоплазме гепатоцитов обнаруживают баллонообразные расширения профилей ГЭР и «осыпание» рибосом с их мембран, что является морфологическим проявлением нарушения синтеза белков (см. рис. 3а, 3в). Объемная плотность ГЭР в клетках снижается по сравнению с контролем почти в 1,5 раза ( $3,940 \pm 0,270$  и  $5,750 \pm 0,310 \text{ мкм}^3$ , соответственно). Это сопровождается усиленной экскрецией миелоноподобных структур (см. рис. 3б, 3г) и кламатозом профилей эндоплазматического ретикулаума (ЭПР) (см. рис. 2г).

На поверхности отдельных гепатоцитов происходит формирование гипоксических пузырей и инвагинаций, что является морфологическим признаком развития апоптоза (см. рис. 2г). Нами отмечено, что при воздействиях БаП желчные капилляры расширяются, их микроворсинки неравномерно утолщаются.

#### **Перекисное окисление липидов в печени при введении БаП**

Введение БаП сопровождалось снижением содержания диеновых конъюгатов, при этом наблюдали накопление КТ и МДА как более поздних продуктов окисления (рис. 4). Выявленное нами при воздействиях БаП возрастание концентрации продуктов ПОЛ (КТ и МДА), по сравнению с контролем, можно рассматривать как универсальный механизм повреждения биомембран.

#### **Регионарные лимфатические узлы печени при введении БаП**

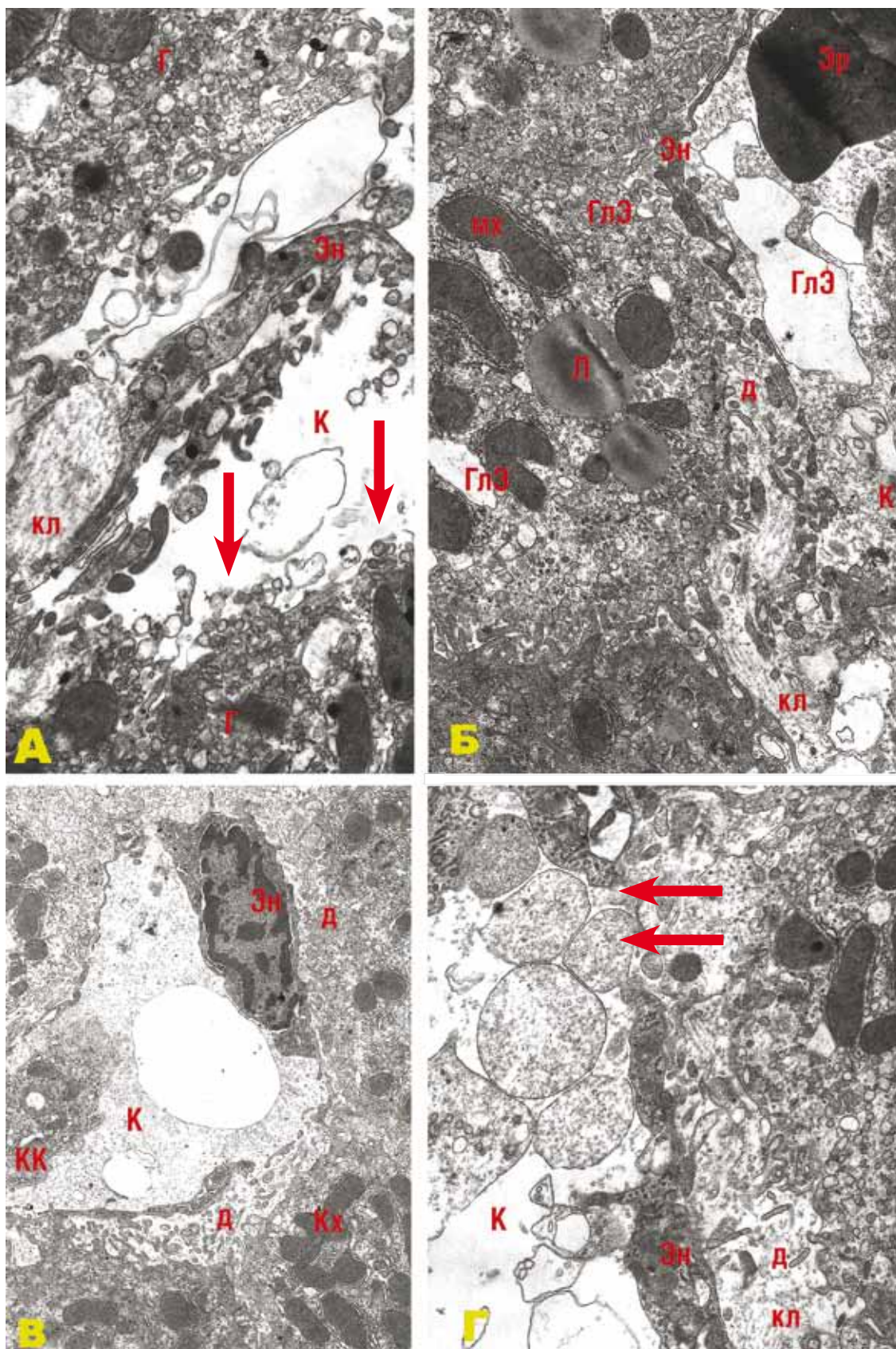
Воздействия БаП приводят к целому каскаду реакций в лимфатическом регионе печени. Это подтверждается синхронным увеличением относительной площади кровеносных синусоидных капилляров печени и удельной площади синусоидной системы регионарных лимфатических узлов, преимущественно за счет мозговых синусов ( $17,930 \pm 4,330\%$  против  $8,160 \pm 1,970\%$  у животной контрольной группы).

Лимфоидный компартмент в лимфатических узлах печени реагирует на острое введение БаП очень характерно: уменьшением удельной площади Т-зависимой паракортикальной зоны до  $3,160 \pm 0,760\%$  (контроль  $5,900 \pm 1,420\%$ ) и увеличением относительных размеров структур, занимаемых В-зависимыми зонами, особенно мягкотных тяжей до  $35,780 \pm 8,630\%$  (контроль  $11,170 \pm 2,700\%$ ) и герминативных центров до  $5,470 \pm 1,320\%$  (контроль  $1,0940 \pm 0,540\%$ ). Возрастает численная плотность вторичных лимфоидных узелков до  $2,190 \pm 0,530$  (контроль  $1,090 \pm 0,270$ ). Корово-мозговой индекс в условиях интоксикации БаП достоверно уменьшается до  $0,530 \pm 0,030$  (контроль  $1,530 \pm 0,080$ ). Такая перестройка конструкции лимфатических узлов связана со значительным увеличением относительной площади всего мозгового вещества до  $57,310 \pm 2,850\%$  (контроль  $19,210 \pm 0,620\%$ ) на фоне незначительного снижения относительной площади коркового вещества при воздействиях БаП.

#### **Обсуждение**

Структурным следом метаболических изменений и интенсивности гематотканевого обмена в печени при

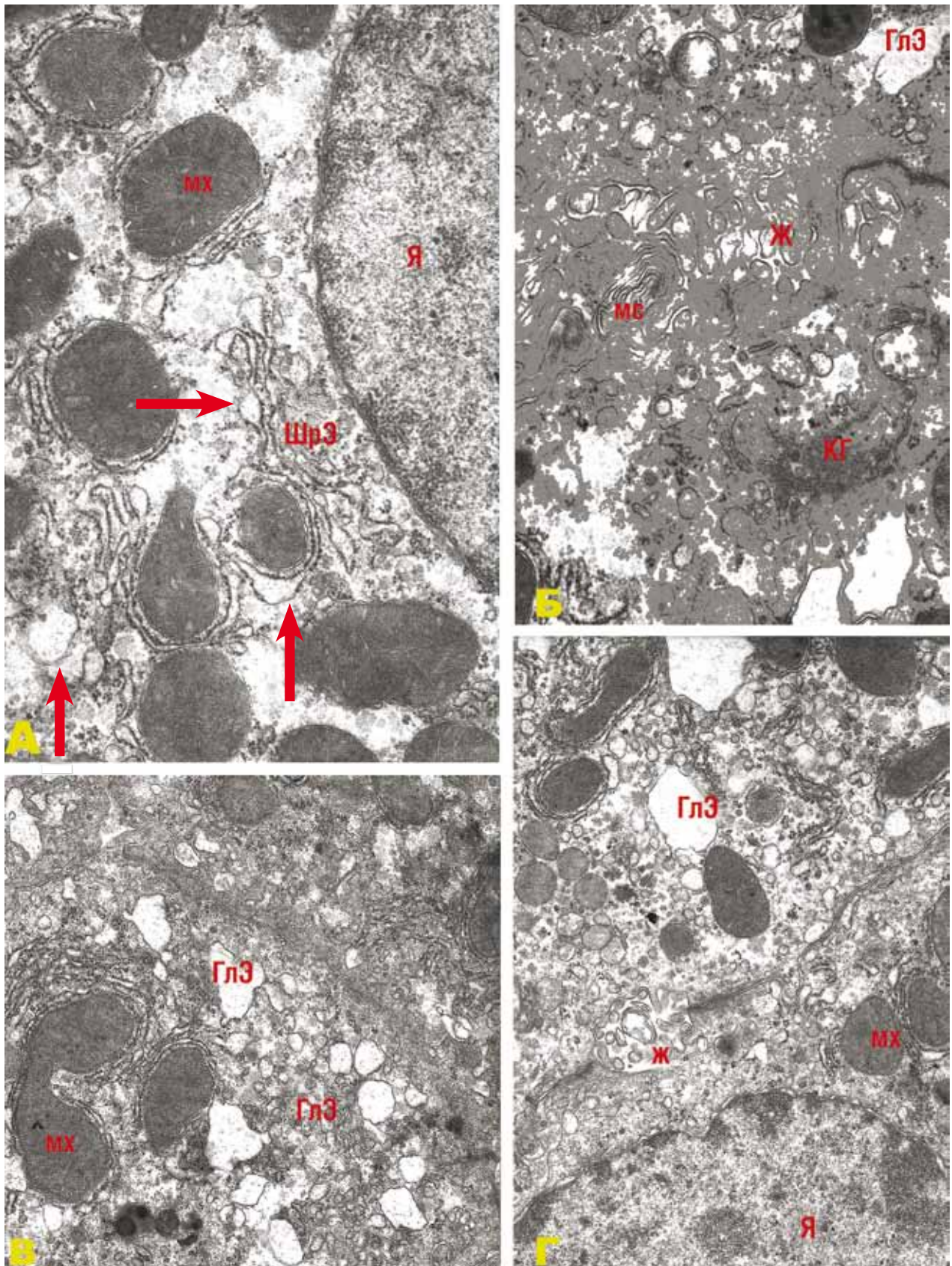




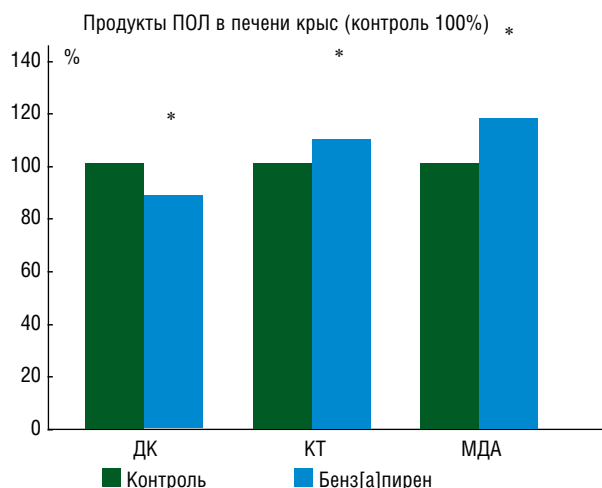
**Рис. 2.** Ультраструктурные изменения в клетках печени крыс после воздействия бенз[а]пирена.

*Примечание.* А — разрушение гематолимфатического барьера и попадание клеточного детрита в просвет синусоидного капилляра; стрелками показано отсутствие эндотелиальной стенки капилляра ( $\times 8000$ ). Б — наличие коллагена в пространстве Диссе и кламатов гладкого эндоплазматического ретикулума (т.е. выход участков ГлЭПР из гепатоцитов в просвет капилляра) ( $\times 8000$ ). В — переполнение пространства Диссе и синусоидного капилляра хлопьевидным материалом и клеточным детритом ( $\times 4000$ ); Г — кламатов участков цитоплазмы гепатоцита и выход их между отростками эндотелиоцита в просвет капилляра (указано стрелками) ( $\times 8000$ ). Г — гепатоцит; Эн — эндотелиальная клетка; К — просвет синусоидного капилляра; Д — пространство Диссе; мх — митохондрии; КК — клетка Купфера; Эр — эритроцит; Л — липиды; ГлЭ — гладкий эндоплазматический ретикулум; кл — пучок коллагена.





**Рис. 3.** Ультраструктурные изменения в гепатоцитах крыс после воздействия бенз[а]пирена.  
*Примечание.* А — «осыпание» рибосом с мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума и его деструктуризация (указано стрелками) ( $\times 15\ 000$ ); Б — миелоноподобные структуры в просвете желчного капилляра, образованного стенками гепатоцитов ( $\times 20\ 000$ ); В — гиперплазия цистерн гладкого эндоплазматического ретикулума в гепатоцитах ( $\times 10\ 000$ ); Г — миелоноподобные структуры в просвете желчного капилляра, образованного стенками гепатоцитов, и гиперплазия ГлЭПР в гепатоцитах ( $\times 10\ 000$ ); Я — ядро; ШрЭ — шероховатый эндоплазматический ретикулум; ГлЭ — гладкий эндоплазматический ретикулум; мх — митохондрии; ж — желчный капилляр; мс — миелоноподобные структуры; КГ — комплекс Гольджи.



**Рис. 4.** Содержание диеновых конъюгатов (ДК), кетотриеновых конъюгатов (КТ) и малонового диальдегида (МДА) в контроле и при воздействиях БаП (в %).

*Примечание.* ПОЛ — перекисное окисление липидов, \* — различие статистически значимо при  $p < 0,05$ .

воздействиях БаП в значительной степени является состояние синусоидных клеток как части гематолимфатического барьера. Последний включает в себя также стенку синусоидных капилляров (с эндотелиальными клетками и клетками Купфера), пространство Диссе с единичными аргирофильными волокнами и коллагеновыми фибриллами, перисинусоидальные липоциты (или Ито-клетки), Pit-клетки и тканевую жидкость [4].

Наличие прерывистой базальной мембраны в периферических и центральных отделах печеночных долек и ее отсутствие в промежуточной части позволяет большому количеству жидкости и белка проходить в пространство Диссе. Интерстициальная жидкость из синусоидов перемещается вдоль перисинусоидальных пространств Диссе и собирается в глубокие лимфатические сосуды печеночной паренхимы, связанные с портальными триадами. В настоящее время интерстициальная жидкость пространств Диссе расценивается как печеночная лимфа [8]. В пользу этого свидетельствует выявленная способность эндотелиальных клеток синусоидов экспрессировать маркер лимфатических сосудов LYVE-1 [8]. Нами отмечено, что при воздействиях БаП желчные капилляры расширяются, их микроворсинки неравномерно утолщаются. Имеются данные о повышении активности фермента N-ацетил-b, D-глюкозаминидазы в желчи крыс после введения БаП, индуцирующего выброс ферментов лизосом в желчь [9]. По-видимому, при воздействии БаП происходит перестройка путей везикулярного транспорта в гепатоцитах, способствующая ускорению выведения органических анионов из клеток печени в желчь, вероятно, направленная на активное удаление БаП и его метаболитов из гепатоцитов.

Выявленные нами ультраструктурные перестройки митохондрий гепатоцитов, на фоне снижения их объемной плотности свидетельствуют о недостаточности функции этих органелл. В настоящее время установлено, что митохондриальная ДНК является главной мишенью химических канцерогенов [1, 2]. Воздействия БаП непосредственно или через вторичный механизм окислительного повреждения в 4–15 раз сильнее ингибируют синтез ДНК митохондрий клеток печени, чем ядерной ДНК [1]. Развивающийся в условиях гипоксии дефицит энергопродукции на фоне активации процессов перекисного окисления липидов приводит к нарушениям метаболизма клеток [10].

Выявленное нами при воздействиях БаП возрастание концентрации продуктов ПОЛ (КТ и МДА), по сравнению с контролем, можно рассматривать как универсальный механизм повреждения биомембран. Известно, что БаП, воздействуя на цитоплазматические мембраны, влияет на гомеостаз внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , участвующего в механизмах передачи сигналов и клеточной пролиферации практически в каждом типе клеток. При этом метаболиты токсиканта более эффективны в повышении концентрации  $Ca^{2+}$ , чем сам исходный БаП [11]. Обнаружено, что воздействие БаП приводит к индукции апоптоза и накоплению липидов в гепатоцитах, и этот процесс зависит от активности цитохрома P-450 [10–12].

Ранее нами было показано, что острая загрузка БаП самцов крыс линии Wistar приводила к увеличению содержания цитохрома P-450, повышению активности цитохром P-448-зависимых ферментов, анилингидроксилазы и бенз[а]пиренгидроксилазы. В настоящее время известно, что биологическая роль процесса свободнорадикального окисления канцерогенов определяется, с одной стороны, его защитной функцией, а с другой — приводит к токсификации исходного канцерогена, ведущей к клеточному повреждению. ПАУ, индуцируя активность цитохрома P-450, повышает содержание активных форм кислорода и вызывает окислительный стресс [12–14], приводящий к формированию структурного следа в печени и ее лимфатическом регионе при воздействиях БаП. В настоящее время известно, что у млекопитающих периферические лимфоидные органы служат первоначальным местом В-клеточного «воспламенения» и родственного созревания, тогда как индукция Т-клеточных управляемых иммунных ответов может происходить вне вторичных лимфоидных тканей. Описан альтернативный путь индукции клеточного иммунитета, в котором антигенпрезентирующие клетки определяют антиген и мигрируют в печень, где они стимулируют развитие нелимфоидных агрегатов (лимфоидных узелков). По-видимому, развивающаяся в условиях воздействия БаП недостаточность паракортикальной зоны регионарных печеночных лимфоузлов компенсируется образованием в самой печени временных скоплений лимфоидной ткани (лимфоидных узелков) [4], где, согласно современным представлениям, инициируются процессы Т-клеточного иммунитета [6].

Рассматривая механизмы этих изменений, необходимо отметить усиление детоксикационной функции регионарных лимфатических узлов печени при острых воздействиях БаП. Так, после введения крысам БаП выявлена индукция цитохрома P-450 в глубокой коре мезентеральных лимфатических узлов, в литоральных клетках, ретикулярных клетках, макрофагах, а также диффузно в мозговых синусах лимфатических узлов [15]. Эти данные свидетельствуют о том, что поступающая из печени лимфа, содержащая БаП и его метаболиты, подвергается активной обработке в регионарных лимфатических узлах, что еще раз подтверждает наличие взаимосвязанной реакции печени и ее регионарного лимфатического аппарата на воздействие БаП.

### Заключение

Наши исследования показали, что при воздействиях БаП в печени и ее лимфатическом регионе изменяются не только структура клеточных элементов, но и лимфатический дренаж во всех его звеньях, включая пути несосудистого массопереноса в интерстиции, лимфатические капилляры и сосуды, регионарные лимфатические узлы. Обнаруженные микро- и ультраструктурные перестройки



свидетельствуют о разбалансировке корней лимфатической системы в печени, нарушении морфологической организации гематолимфатического барьера, затруднении оттока лимфы от органа. Это способствует развитию тканевой гипоксии и апоптоза, нарушению энергетического и белоксинтетического аппарата клеток, образованию временных скоплений лимфоидной ткани в печени.

Воздействия БАП приводят к синхронному увеличению относительной площади кровеносных синусоидных капилляров печени и удельной площади синусоидной системы регионарных лимфатических узлов, преимущественно за счет мозговых синусов. Лимфоидный компартмент в регионарных лимфатических узлах печени реагирует на введение БАП уменьшением относительной площади структур, относящихся к Т-зависимым зонам и нарастанием удельной площади структур, занимаемых В-зависимыми зонами. Повышение содержания кетотриеновых конъюгатов и малонового диальдегида в органе

способствует формированию структурного следа в клетках печени при токсических воздействиях БАП.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### Выражение признательности

Авторы благодарят сотрудников Центра коллективно-пользования «Электронной и оптической микроскопии» НИИ физиологии и фундаментальной медицины г. Новосибирска за предоставленную возможность работать на электронном микроскопе JEOL JEM-1400 и содействие в подготовке материалов для данной статьи.

### ЛИТЕРАТУРА

- Pessah I.N., Beltzner C., Burchiel S.W., Sridhar G., Penning T., Feng W. A bioactive metabolite of benzo(a)pyrene, benzo(a)pyrene 7,8-dione, selectively alters microsomal Ca<sup>2+</sup> transport and guanine receptor function. *Mol. Pharmacol.* 2001; 59 (3): 506–513.
- Pieters N., Koppen G., Smiten K., Napierska D., Plusquin M., De Prins S., Van De Weghe H., Nelen V., Cox B., Cuypers A., Hoet P., Schoeters G., Nawrot T.S. Decreased mitochondrial DNA content in association with exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in house dust during wintertime: from a population enquiry to cell culture. *PLoS One.* 2013; 8 (5): 63208.
- Alexander J.S., Ganta V.C., Jordan P.A., Marlys H. Gastrointestinal lymphatics in health and disease. *Pathophysiology.* 2010; 17 (4): 315–335.
- Бородин Ю.И., Мичурина С.В., Ищенко И.Ю., Белкин А.Д. Лимфатический регион и гематолимфатический барьер печени в норме. В кн.: Лимфология. Под ред. В.И. Коненкова, Ю.И. Бородина, М.С. Любарского. *Новосибирск: Манускрипт.* 2012. С. 215–220.
- Путилина Ф.Е., Галкина О.В., Ещенко Н.Д., Дуже Г.П., Красовская И.Е. Практикум по свободнорадикальному окислению. *СПб: СПбГУ.* 2006. С. 3–10.
- Greter M., Hofmann J., Becher B. Neo-lymphoid aggregates in the adult liver can initiate potent cell mediated immunity. *PLoS Biol.* 2009; 7 (5): 1000109.
- Мичурина С.В. Влияние острых воздействий 3,4-бензпирена на липоциты печени крыс разного пола. *Бюллетень СО РАМН.* 1995; 2: 66–69.
- Mouta C.C., Nasser S.M., di Tomaso E., Padera T.P., Boucher Y., Tomarev S.I., Jain R.K. LYVE-1 is not restricted to the lymph vessels: expression in normal liver blood sinusoids and down-regulation in human liver cancer and cirrhosis. *Cancer Res.* 2001; 61 (22): 8079–8084.
- Pupyshev A.B., Gutina E.M., Fedina R.G., Michurina S.V., Shurygina A.V., Verbitskaya L.V. Effect of Benz(a)pyrene and Constant Light Exposure on Rat Liver Lysosomes and Biliary Excretion of Lysosomal Enzymes. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005; 139 (1): 34–37.
- Podechard N., Tekpli X., Catheline D., Holme J.A., Rioux V., Legrand P., Riolland M., Fardel O. Mechanisms involved in lipid accumulation and apoptosis induced by 1-nitropyrene in Hepa1c1c7 cells. *Toxicol. Lett.* 2011; 206 (3): 289–299.
- Barhoumi R., Mouneimne Y., Awooda I., Safe S., Donnelly K.C., Burghardt R.C. Characterization of calcium oscillations in normal and benzo(a)pyrene-treated clone 9 cells. *Toxicol. Sci.* 2002; 68 (2): 444–450.
- Kula B., Sobczak A. and Kuska R. Effects of static and ELF magnetic fields on free radical processes in rat liver and kidney. *Electro-Magnetobiol.* 2000; 19 (1): 99–105.
- Черняк Ю.И., Грассман Д.А., Колесников С.И. Влияние стойких органических загрязнителей на биотрансформацию ксенобиотиков. *Новосибирск: Наука.* 2007. 134 с.
- Черняк Ю.И., Колесников С.И., Черняк Е.В. Цитохром P450: основные представления, методы исследования, значение для практической медицины. *Иркутск: ИТУ.* 2014. 47 с.
- Borodin Yu.I., Maiborodin I.V., Safina A.F., Strunkin D.N. The Possibility of Cytochrome P450 1A1/1A2 Induction in Cells of Distant Lymph Nodes of Rats after Enteral Treatment with Benzo(a)pyrene. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005; 140 (5): 564–567.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Мичурина Светлана Викторовна**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии лимфатической системы НИИ клинической и экспериментальной лимфологии  
**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2, **тел.:** +7 (383) 335-98-52, **e-mail:** S.Michurina@NGS.ru

**Бородин Юрий Иванович**, академик РАН, директор Центра эндоэкологической реабилитации НИИ клинической и экспериментальной лимфологии  
**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2, **тел.:** +7 (383) 335-93-53, **e-mail:** lympha@niikel.ru

**Колесников Сергей Иванович**, академик РАН, главный научный сотрудник НЦ ПЗСРЧ  
**Адрес:** 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, **тел.:** +7 (3952) 20-76 36, **e-mail:** sikolesnikov2012@gmail.com

**Ищенко Ирина Юрьевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии лимфатической системы НИИ клинической и экспериментальной лимфологии  
**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2, **тел.:** +7 (383) 335-98-52, **e-mail:** irenisch@mail.ru

**Коненков Владимир Иосифович**, академик РАН, директор НИИ клинической и экспериментальной лимфологии.  
**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2, **тел.:** +7 (3833) 33-64-09, **e-mail:** vikonenkov@gmail.com

Г.Г. Онищенко<sup>1</sup>, Э.А. Москвитина<sup>2</sup>, В.Д. Кругликов<sup>2</sup>, С.В. Титова<sup>2</sup>, О.Л. Адаменко<sup>2</sup>,  
А.С. Водопьянов<sup>2</sup>, С.О. Водопьянов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Российская академия наук, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени  
научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Российская Федерация

## Эпидемиологический надзор за холерой в России в период седьмой пандемии

*Представлены основные этапы становления эпидемиологического надзора за холерой в России. В 1990-е гг. впервые проведено районирование на уровне субъектов, входящих в состав России и других республик Союза, по типам эпидемических проявлений холеры с введением дифференцированной тактики эпидемиологического надзора. Совершенствование эпидемиологического надзора за холерой было направлено на гармонизацию с Международными медико-санитарными правилами (2005), интеграцию с социально-гигиеническим мониторингом водных объектов I и II категорий. При характеристике выделенных из объектов окружающей среды холерных вибрионов (1990–2014 гг.) *Vibrio cholerae* O1 ctxAB- tcpA- на геномной основе установлено появление новых VNTR-генотипов *V. cholerae* O1 ctxAB+ tcpA+, ответственных за вспышки высокоопасной инфекции. Высказана точка зрения о начале восьмой пандемии холеры, обусловленной *V. cholerae* O1 биовара El Tor с наличием в профаге CTXφ гена ctxB холерного токсина классического биовара. Основными направлениями совершенствования эпидемиологического надзора на современном этапе являются исследование структур основ-ных данных, используемых для определения эпидпотенциала территорий; переход на районирование входящих в субъекты муниципальных образований с дифференцированной тактикой эпидемиологического надзора и ожидаемым экономическим эффектом.*

**Ключевые слова:** холера, пандемия, эпидемиологический надзор, районирование, *V. cholerae* O1 El Tor 1, VNTR-генотипирование.

**(Для цитирования:** Онищенко Г.Г., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Титова С.В., Адаменко О.Л., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О. Эпидемиологический надзор за холерой в России в период седьмой пандемии. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 249–256. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1320)

249

### Введение

На современном этапе эпидемиологический надзор за инфекционными болезнями как наиболее прогрессивная форма противоэпидемической деятельности с учетом теоретических основ (механизм передачи возбудителей инфекций Л.В. Громашевского, 1941; учение об эпиде-

мическом процессе В.Д. Белякова, 1965; социально-экологическая концепция Б.Л. Черкасского, 1984), а также методических приемов (эпидемиологический анализ и диагностика) и действующих в стране законодательных и нормативных документов является научно-организационной основой управления эпидемическим процессом. Эпидемиологическому надзору за холерой как одному

G.G. Onishhenko<sup>1</sup>, Je.A. Moskvitina<sup>2</sup>, V.D. Kruglikov<sup>2</sup>, S.V. Titova<sup>2</sup>, O.L. Adamenko<sup>2</sup>,  
A.S. Vodop'janov<sup>2</sup>, S.O. Vodop'janov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Russian Academy of Science, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Rostov-on-Don Research Anti-plague Institute of Federal Service on Supervision in the Sphere of Consumer Rights  
Protection and Human Welfare, Russian Federation

## Epidemiological Surveillance of Cholera in Russia During the Period of the Seventh Pandemic

*In this work basic stages of formation of the epidemiological surveillance of cholera in Russia are described. In 1990-s for the first time zoning by epidemic manifestations of cholera was carried out at the level of subjects forming parts of Russia and other Republics of the Soviet Union with the introduction of differential tactics of epidemiological surveillance. Improvement of epidemiological surveillance of cholera was aimed at harmonization with the IHR (2005), integration of epidemiological surveillance of cholera and social-hygienic monitoring of water objects of I and II categories. Characterization of isolated *Vibrio cholerae* strains (1990–2014) on the genomic basis determined the emergence of new VNTR-genotypes of *V. cholerae* O1 ctxAB+ tcpA+, responsible for outbreaks, simultaneously with isolation of *V. cholerae* O1 ctxAB- tcpA- strains during monitoring of environmental objects for cholera. A viewpoint is considered of the beginning of the eighth cholera pandemic in the context of emergence of *V. cholerae* El Tor strains with CTXφ prophage carrying ctxB gene of cholera toxin of classical biovar. Main directions of further enhancement of epidemiological surveillance include the study of basic data structures used in the epidemiological surveillance system, the use of zoning of municipal units of federal subjects with corresponding surveillance tactics and expected economic effect.*

**Key words:** cholera, pandemic, epidemiological surveillance, zoning, *V. cholerae* O1 El Tor, VNTR-genotyping.

**(For citation:** Onishhenko G.G., Moskvitina Je.A., Kruglikov V.D., Titova S.V., Adamenko O.L., Vodop'janov A.S., Vodop'janov S.O. Epidemiological Surveillance of Cholera in Russia During the Period of the Seventh Pandemic. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 249–256. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1320)



из действенных мероприятий, направленных на предупреждение возникновения осложнений эпидемической обстановки, на наш взгляд, альтернативы не существует.

Целью исследования было охарактеризовать этапы формирования, современные аспекты и основные направления совершенствования эпидемиологического надзора за холерой в России в период седьмой пандемии.

### **От общей тактики при эпидемиологическом надзоре за холерой до дифференцированного объема мероприятий с учетом районирования на уровне субъектов, входящих в состав России**

Седьмая пандемия холеры, обусловленная *Vibrio cholerae* O1 биовара *El Tor*, более продолжительная по времени и масштабная по охвату числа стран всех континентов мира по сравнению с шестью предыдущими, началась в 1961 г.

Становление системы эпидемиологического надзора за холерой в России прошло определенные этапы, каждый из которых имел соответствующий комплекс мероприятий [1–3]. В основу тактики надзора с учетом предыдущих крупных вспышек холеры в России (в 1960–1980 гг.) были положены такие превентивные меры, как обследование больных острыми кишечными инфекциями (ОКИ) и исследование проб из объектов окружающей среды, в т.ч. изучение фенотипических свойств выделяемых штаммов *V. cholerae* O1 *El Tor*. Наряду с этим разрабатывались основы организации и проведения противохолерных мероприятий, предусматривающие изменение тактики эпидемиологического надзора. В частности, проводившееся с целью раннего выявления носителей инфекции обследование всех лиц, вернувшихся из неблагополучных по холере стран, по причине неэффективности было заменено на обследование больных ОКИ, которое впоследствии также было отменено [4]. На смену пришло бактериологическое обследование социально незащищенного контингента населения, в частности, лиц без определенных занятий, что аргументировалось высоким удельным весом данной группы среди первых зараженных, достигавшим 18,3% от общего числа инфицированных во время вспышек холеры 1971–1976 гг. Вспышки холеры в психоневрологических учреждениях (Дагестанская АССР, 1970; Башкирская АССР, 1972) и выявление среди поступающих в эти учреждения до 2,3% вибрионосителей (Ростовская область, 1974–1976) стали основанием для объединения этих пациентов в группы, подлежащие обследованию.

Важное место в системе эпидемиологического надзора отводилось бактериологическому исследованию воды поверхностных водоемов и сточных вод, прежде всего, для предупреждения водного пути распространения возбудителя. Достаточно отметить, что с 1970 по 1988 гг. холерные вибрионы *El Tor* были обнаружены в пробах воды из 388 рек и ручьев, 392 оросительных каналов и арыков, 266 озер, прудов и водохранилищ, 56 артезианских скважин, искусственных водоемов, плавательных бассейнов, 6 морей, а также из сточных вод 138 населенных пунктов. Из пресноводных водоемов было выделено 17 818 штаммов, из морской воды — 884, из сточных вод — 4734 [5]. Для отработки тактики надзора большое внимание уделялось выбору стационарных точек отбора проб, изучению интенсивности, сезонности, длительности обнаружения различных по вирулентности холерных вибрионов в поверхностных водоемах с учетом их гидрологических и эколого-гигиенических условий, также в сточных водах

различного происхождения [6–13]. Итогом работы стало введение дифференцированного объема мероприятий с учетом вирулентности выделяемых штаммов холерных вибрионов O1 из объектов окружающей среды [5].

Следует отметить, что при становлении системы эпидемиологического надзора за холерой совершенствовалась и тактика проводимых мероприятий, предусматривающая своевременное выявление больных холерой и вибрионосителей, обнаружение холерных вибрионов в объектах окружающей среды, унифицирование биологических свойств холерных вибрионов по единым методикам, в т.ч. с учетом их изменчивости. Однако принимаемые на территориях России и республик Союза противоэпидемические меры не учитывали ни фактических, ни внутренних рисков (демографические показатели, характеристику эпидемических проявлений инфекции, природные и социальные условия). Поэтому, несмотря на колоссальные объемы исследований и противохолерных мероприятий, в России сохранялась неустойчивая эпидемиологическая обстановка, обусловленная заносами инфекции извне, а число ежегодно поражаемых стран, по данным экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), не уменьшалось [11].

Для решения задач эпидемиологического надзора и обеспечения его эффективности в 1990 г. Российской академией наук впервые были разработаны методические подходы и проведено районирование 117 субъектов (область, край, республика) в составе 13 республик СССР (кроме Латвии, Литвы и Эстонии), в т.ч. 89 субъектов России с ранжированием на территории I типа, II типа подтипа II А и II Б, III типа подтипа III А, III Б и III В по эпидемическим проявлениям холеры. При этом регламентировалась дифференцированная тактика эпидемиологического надзора при обследовании определенных контингентов населения и изучении проб из водных и других объектов окружающей среды [14, 15]. Был проведен ретроспективный анализ эпидемических проявлений холеры с 1965 по 1989 г. с использованием комплекса показателей, характеризующих интенсивность и типы эпидемического процесса. Использование молекулярно-генетических методов, в частности молекулярного зондирования, для выявления в геноме изучаемых штаммов участков ДНК, детерминирующих и контролирующих синтез холерного токсина, открыло новые возможности в оценке эпидемической значимости штаммов холерных вибрионов, выделенных в СССР за период седьмой пандемии [16]. Полученные данные были также использованы при районировании субъектов по типам эпидемических проявлений холеры.

Для территорий, отнесенных к I типу (Астраханская, Ростовская и Волгоградская обл.), были характерны хронические во времени крупные вспышки завозного происхождения с последующим распространением возбудителя инфекции, в т.ч. водным путем. При эпидемиологической оценке условий водоснабжения и водопользования была установлена высокая или повышенная степень потенциальной опасности водного пути распространения возбудителя инфекции. Отмечено ежегодное сезонное обнаружение холерных вибрионов O1, в т.ч. вирулентных, в поверхностных водоемах (май–сентябрь). Санитарно-гигиенические условия, выраженные миграционные процессы, наличие зон отдыха, транспортные связи с зарубежными странами способствовали сохранению высокой степени опасности возникновения вспышек и распространения холеры на территориях I типа.

На территориях II типа завоз инфекции в 1970-е гг. вызвал в основном острые вспышки (от 10 до 100 и более)

с тенденцией распространения в Краснодарском крае, Республике Калмыкии и Дагестане. Для территорий II типа были характерны все типы вспышек (пищевой и бытовой, а также водный путь передачи возбудителя инфекции), что послужило разделению этой группы территорий на 2 подтипа.

Для территорий, отнесенных к III типу и занимающих наибольшую площадь России и других республик бывшего СССР, характерны следующие особенности:

- III тип подтип А — завоз инфекции вызвал острые локальные вспышки без последующего распространения холеры на другие территории;
- III тип подтип Б — зарегистрировано только выделение, в основном авирулентных, холерных вибрионов из объектов окружающей среды;
- подтип В — холера не зарегистрирована.

Вероятность завоза инфекции во все субъекты III типа существует, но степень опасности возникновения вспышек холеры низкая.

Определение типов эпидемических проявлений холеры на территории страны позволило разделить субъекты по степени опасности возникновения вспышек и распространения холеры, т.е. определить территории риска, что имело, в свою очередь, прогностическое значение. Это не исключало перехода любых территорий из одного типа/подтипа в другие. Определяющим при этом оставался комплекс показателей, характеризующих эпидемический потенциал территории.

Так, особенности эпидемии холеры 1994 г. в Дагестане, когда было зарегистрировано 2359 больных и вибрионосителей в 187 населенных пунктах 27 районов и 8 городах, были обусловлены завозом холеры паломниками, следовавшими на автомобильном транспорте из Саудовской Аравии; выраженными миграционными процессами внутри республики и за ее пределы; недостаточным уровнем коммунального благоустройства населенных мест (водоснабжение, водоотведение и их очистка); социально-экономическими условиями (официально зарегистрированная и скрытая безработица составляли более 8% численности населения) [17]. Вспышка холеры в 1998 г., вероятность последующих завозов при сохраняющихся

социальных проблемах явились обоснованием перевода Республики Дагестан в группу территорий I типа.

Обострение социальной напряженности ввиду военной нестабильности, регистрация крупной эпидемической вспышки холеры в 1994 г. в Чеченской республике, увеличение числа беженцев в сопредельные территории, вероятность завоза инфекции с наемниками из стран Азии, в т.ч. неблагополучных по холере, явились основанием для перевода Чеченской республики и сопредельных административных территорий (Ингушетии, Ставропольского края) в территории I типа.

Вспышка холеры в 1999 г. в Приморском крае (66 больных холерой и 21 вибрионоситель) была обусловлена завозом инфекции из Китая, когда действующие меры по санитарной охране территории страны в пунктах пропуска через государственную границу оказались малоэффективными, прежде всего по факту раннего выявления больных холерой. Последующее распространение возбудителя инфекции путем рекреационного водопользования [18] привело к ежегодному выделению различных по происхождению атоксигенных холерных вибрионов, что послужило основанием для перевода края из III типа подтипа А во II тип. Указанные данные были учтены при переработке санитарно-эпидемиологических правил по эпидемиологическому надзору за холерой [19].

### Совершенствование системы эпидемиологического надзора за холерой в России

Формирование базы данных по результатам эпидемиологического надзора за холерой за период 1970–1990 гг.; анализ различных по интенсивности вспышек во взаимосвязи с чрезвычайными ситуациями природного и социального происхождения как пускового механизма в генезе вспышек (Ставрополь, 1990; Республика Дагестан, 1993, 1994, 1998; Приморский край, 1999; Республика Татарстан, 2001); наличие потенциальных и реальных внешних/внутренних рисков и угрозы осложнения обстановки свидетельствовали о необходимости совершенствования системы эпидемиологического надзора.

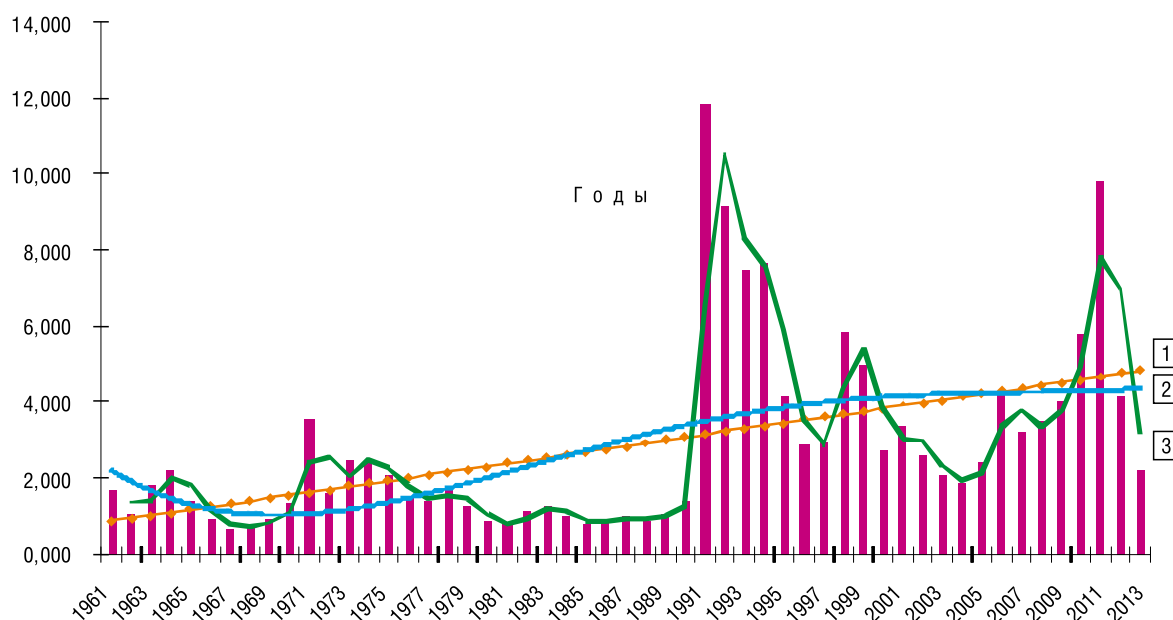


Рис. 1. Динамика заболеваемости холерой в мире.

Примечание. Прямолинейная (1), полиномиальная (2), степенная (3) тенденция.

Следует отметить, что мировой уровень заболеваемости холерой в начале XXI в. превышал таковые в 1970–1980 гг. (рис. 1). По данным экспертов ВОЗ, официальные уведомления из стран не отражали подлинных масштабов распространения инфекции, единичные случаи и вспышки которой в Международных медико-санитарных правилах (2005) рассматриваются как чрезвычайная ситуация [20]. Холерные эпидемии и вспышки были обусловлены *V. cholerae* O1 *El Tor*. На ограниченных территориях стран Южной и Юго-Восточной Азии имели место вспышки холеры Бенгал с выделением от больных *V. cholerae* O139 серогруппы [21, 22]. На основании ретроспективного эпидемиологического анализа как одного из компонентов системы эпидемиологического надзора с использованием сведений проблемно-ориентированной базы данных «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в СНГ, России» [23] установлено, что с 1990 по 2014 г. в 32 субъектах России было зарегистрировано более 3200 больных холерой и вибрионосителей. Несомненный интерес представляет характеристика выделенных при этом штаммов *V. cholerae* O1 *El Tor* и *V. cholerae* O139 серогрупп на геномной основе.

Для реализации поставленной задачи проведено генотипирование методом переменного числа tandemных повторов (variable number tandem repeats, VNTR) 326 штаммов *V. cholerae* O1 *El Tor* и *V. cholerae* O139 серогрупп, изолированных от больных холерой, вибрионосителей, а также из объектов окружающей среды в период вспышек и при отсутствии регистрации холеры в 21 субъекте России (1990–2014 гг.). VNTR-анализ осуществлен по 5 локусам вариабельных tandemных повторов [24, 25], кластерный анализ распределения аллелей локусов VNTR — с использованием метода UPGMA (unweighted pair group

method with arithmetic mean) и разработанной геоинформационной системы «Холера. Штаммы-VNTR» [26], по результатам которой построена дендрограмма (рис. 2). Штаммы *V. cholerae* были разделены на 2 кластера:

- кластеры А–F — эпидемически значимые *V. cholerae* O1 и *V. cholerae* O139 серогрупп, содержащие гены основных факторов вирулентности (холерного токсина *ctxA* и токсинорегулируемых пилей *tcpA*), выделенных от больных и из объектов окружающей среды;
- кластеры G–M — *V. cholerae* O1 и *V. cholerae* O139 серогрупп *ctxA-tcpA*-, изолированные в основном из проб поверхностных водоемов.

Установлено, что с 1990 по 2003 г. преобладали штаммы *V. cholerae* O1 с VNTR-генотипами, относящимися к кластеру В: *V. cholerae* O1 (B3–B19) — ответственные за эпидемию и вспышки холеры в Республике Дагестан (1994, 1998) и *V. cholerae* O1 (B2, B20–B22) — за вспышки и спорадические случаи холеры в Ростовской обл. (1990, 1992). Наряду с указанными, обнаружены *V. cholerae* O1 VNTR-генотипа D7 (Республика Дагестан, 1996) и штаммы VNTR-генотипов D1, D4–D6, D8 (Ростовская обл., 2002), выделенные из объектов окружающей среды на фоне отсутствия регистрации больных холерой. В кластер Е вошли *V. cholerae* O1 (E2, E4, E5, E6), обусловившие вспышку в Казани (2001); *V. cholerae* O139 серогруппы (E7, E8), изолированные от больных холерой при завозе инфекции (Ростовская обл., 1993), и *V. cholerae* O1 (E1, E3, E6) — из объектов окружающей среды (Ростовская обл., 2001). На основании характера распределения VNTR-аллелей (кластер F) *V. cholerae* O1 *ctxA*B- *tcpA*+, ответственных за вспышку в Ростовской обл. (2005), установлено их филогенетическое родство со штаммами кластеров А–Е. В эту группу кластеров вошли

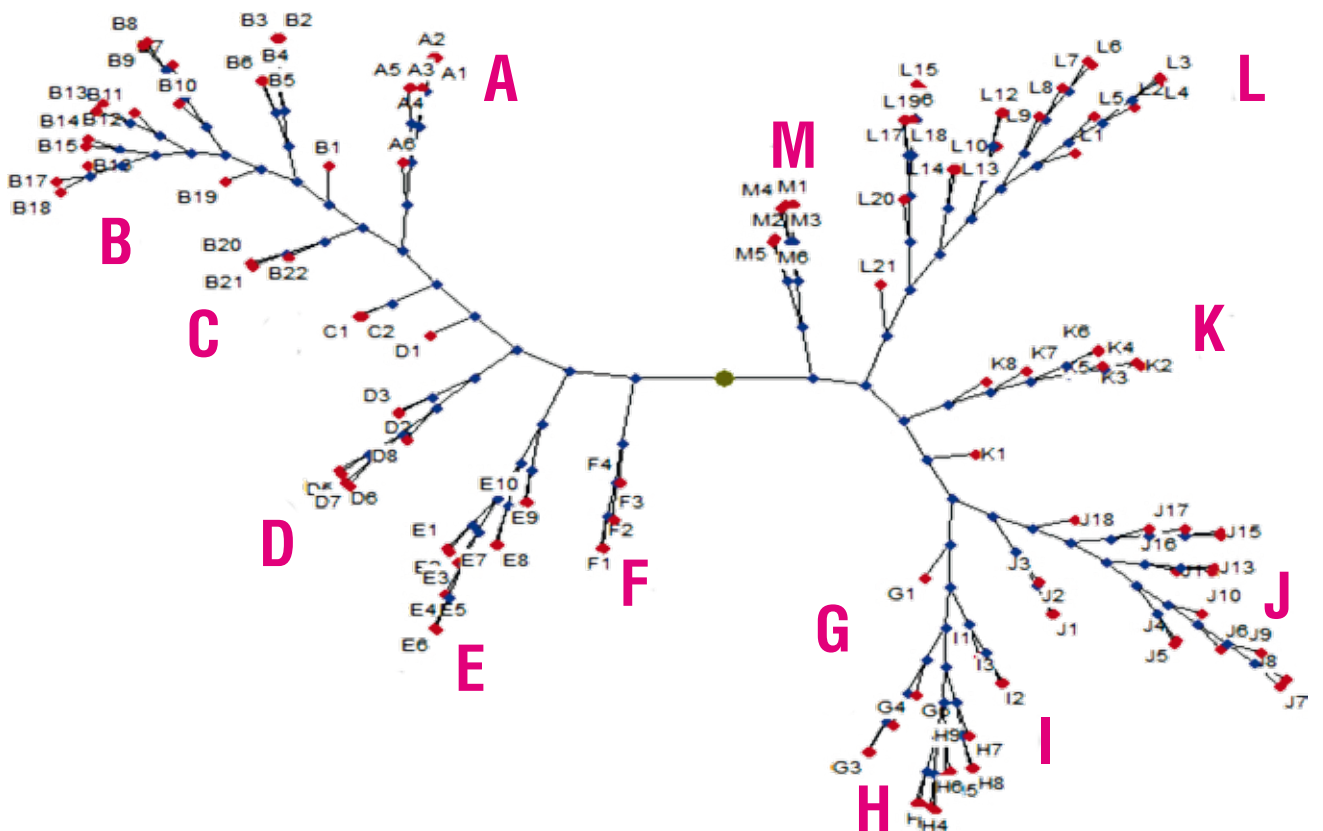


Рис. 2. Геоинформационная система «Холера. Штаммы-VNTR». Дендрограмма, построенная по результатам кластерного анализа распределения аллелей локусов VNTR штаммов холерных вибрионов.

Примечание. Латинскими буквами обозначены кластеры.

штаммы *V. cholerae* O1 stxAB- tcpA+ VNTR-генотипы D2, D3 и C1, C2 из объектов окружающей среды (Республика Калмыкия, 2012, 2013 гг. и Хабаровский край, 2013 г., соответственно).

Установленное завозное происхождение (из Таджикистана в 2005 г. и Индии в 2010 г.) имеют новые VNTR-генотипы *V. cholerae* O1 stxAB+ tcpA+, выделенные от больных холерой в Москве (A2, A3) и Тверской обл. (A4), соответственно, а также *V. cholerae* O1 stxAB+ tcpA+ (A2 и A1) — в пробе воды из Таганрогского залива Азовского моря и реки Дон (Ростовская область, 2011, 2014). Обнаружение *V. cholerae* O1 VNTR-генотипов A–F имело место на фоне выделения атоксигенных *V. cholerae* O1 и O139 VNTR-генотипов G–M при мониторинге объектов окружающей среды.

Необходимо отметить, что начало седьмой пандемии холеры в России и все последующие ее проявления имели завозной «пусковой механизм» развития эпидемического процесса. С 1990 г. зафиксировано 147 завозов холеры на территорию 25 субъектов России различными видами международного транспорта — из стран Азии (Индия, Сирия, Иран, Пакистан, Шри-Ланка, Китай) и СНГ (Казахстан, Таджикистан) [27]. В связи с этим на этапах совершенствования эпидемиологического надзора за холерой в ряде субъектов I, II и III типа подтипа A было апробировано использование комплекса показателей, характеризующих миграцию населения как предпосылку и фактический риск активизации эпидемического процесса в 2005–2007 гг.: число в субъекте всех видов международных пунктов пропуска через Государственную границу Российской Федерации; значение коэффициента интенсивности миграционного оборота [28] и др. Установлено, что из 295 пунктов пропуска наибольшее число завозов холеры (41,7%) имели территории III типа подтипа A. Выявлено высокое и повышенное значение коэффициента интенсивности миграционного оборота на территориях I типа: Ростовская, Волгоградская, Астраханская обл., Ставропольский край, Республика Дагестан; II типа: Краснодарский и Приморский край; III типа подтипа A: Хабаровский край, Иркутская и Саратовская обл., Республика Алтай.

Анализ эффективности регламентированной тактики эпидемиологического надзора при обследовании на холеру (2000–2007 гг.) определенных контингентов населения показал, что среди заболевших ОКИ российских и иностранных граждан выявлены больные холерой в Башкортостане (2004) и Мурманской области (2006) после возвращения из Индии. Среди иностранных граждан и лиц без гражданства, привлекаемых к трудовой деятельности, выявлены больные холерой, прибывшие из Таджикистана в Тверскую область, Москву и Ростовскую область (2005).

Совершенствование эпидемиологического надзора в период седьмой пандемии было направлено на гармонизацию эпидемиологического надзора за холерой с международными медико-санитарными правилами (2005). В частности, обследование иностранных граждан на территории страны было предусмотрено в соответствии со статьей 23, п. 2 [20]. В Постановлении Главного государственного врача Российской Федерации от 14.12.2007 № 86 «Об организации медицинского освидетельствования иностранных граждан и лиц без гражданства» была регламентирована тактика бактериологического обследования на холеру указанного контингента.

Следует отметить, что социально-экономические преобразования в России диктовали необходимость реформирования политики здравоохранения в области укрепления и обеспечения санитарно-эпидемиологического

благополучия населения, одним из результатов которого стало создание Государственной системы социально-гигиенического мониторинга (СГМ), причем на фоне действующей в стране системы эпидемиологического надзора за холерой. Сходство целей при реализации систем СГМ и эпидемиологического надзора, заключающихся в оценке рисков факторов окружающей среды для здоровья населения и разработке рекомендаций по управлению рисками, позволило считать, что СГМ и эпидемиологический надзор — это две параллельно функционирующие и взаимно дополняющие друг друга информационно-аналитические подсистемы единой службы государственного санитарно-эпидемиологического надзора [29]. Исходя из этого, в функциональной структуре эпидемиологического надзора за холерой, а именно при определении эпидемического потенциала территорий I, II и III типа (выборочно), предусматривалось использование результатов мониторинга условий водоснабжения и водопользования с оценкой микробиологических показателей среды обитания. Реализация этой задачи рассматривалась как совершенствование методологической платформы эпидемиологического надзора за холерой.

При оценке данных (2000–2007 гг.) социально-гигиенического мониторинга водоемов I категории, используемых в качестве источника для питьевого водоснабжения (соответствие СанПиН 2.1.5.980-00), подземных вод (СанПиН 2.1.4.1075-02), качества воды из водопроводной сети централизованных систем питьевого водоснабжения на соответствие гигиеническим нормативам по основным микробиологическим показателям (СанПиН 2.1.4.1074-01), а также водоемов II категории (СанПиН 2.1.5.980-00) установлена повышенная и высокая степень потенциальной опасности условий водоснабжения и рекреационного водопользования за счет превышения значений микробиологических показателей (термотолерантные и общие колиформные бактерии) на территориях, взятых в исследование, относящихся к I (Астраханская, Волгоградская, Ростовская области, Республика Дагестан, Ставропольский край), II (Краснодарский и Приморский край, Республика Калмыкия) и III типу подтипа Aпо эпидемическим проявлениям (Липецкая, Рязанская, Саратовская, Кемеровская области, г. Иркутск). Путем проведенных исследований выявлена контаминация *V. cholerae* O1 stxA- tcpA- поверхностных водоемов, используемых для питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения, в зонах санитарной охраны на территориях I типа — в Астраханской и Ростовской областях, Ставропольском крае; II типа — в Краснодарском и Приморском крае; III типа подтипа A — в Рязанской и Кемеровской областях. Холерные вибрионы были выделены из проб поверхностных водоемов в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод в Приморском крае и Республике Калмыкия, а также в местах неорганизованного рекреационного водопользования в Краснодарском крае и Республике Калмыкия. Контаминация *V. cholerae* O1 stxAB+ tcpA+ сточных вод и поверхностных водоемов было обнаружено в Ростовской области (2001, 2003, 2011, 2014) и Санкт-Петербурге (2005).

На основании комплексной оценки показателей и данных, характеризующих эпидемические проявления холеры, свойства холерных вибрионов, миграцию населения в пунктах пропуска через Государственную границу Российской Федерации, а также выделение холерных вибрионов из стационарных точек отбора проб из объектов окружающей среды во взаимосвязи с результатами социально-гигиенического мониторинга водных объектов I и II категорий установлен повышенный эпидемический



потенциал территорий I, II и III типа подтипа А, взятых в исследование. Полученные результаты показали отсутствие достаточных оснований для перевода субъектов из одного типа в другой при пересмотре районирования Российской Федерации по типам эпидемических проявлений холеры, которое было адаптировано к новому административному делению страны в 2008 г. и учтено в СП 3.1.1.2521–09 [30]. Таким образом, районирование следует рассматривать как динамический, изменяющийся во времени и пространстве процесс, направленный на определение территорий риска, что отвечает стратегии эпидемиологического надзора на международном и национальном уровне [31].

### Современные аспекты эпидемиологического надзора за холерой и основные направления дальнейшего совершенствования

Постоянное отслеживание процесса распространения холеры на глобальном, континентальных и региональных уровнях является неотъемлемой составляющей эпидемиологического надзора. По официальным данным экспертов ВОЗ, с 1961 по 2014 г. зарегистрировано 7 652 480 случаев холеры в 171 стране мира. Эпидемии и вспышки холеры на различных континентах мира в период седьмой пандемии обусловлены в основном *V. cholerae* O1 *El Tor*, предшествующие 6 пандемий (1817–1926 гг.) — *V. cholerae classical*. Отметим, что замещение *V. cholerae classical* вибрионом *V. cholera El Tor* было связано с изменением структуры и функции генома возбудителя холеры в процессе его эволюции, в частности, структуры профага СТХф, несущего оперон *ctxAB* холерного токсина, ответственного за основной сигнальный признак холеры — диарею [32].

Появление у возбудителя *V. cholerae* O1 нового геноварианта *El Tor*, близкородственного штаммам из Бангладеш — GIRS-101 (2002) и M4 (2008) — с наличием в профаге СТХф гена *ctxB* холерного токсина классического биовара [33], рассматривается как довольно быстрая эволюция генома возбудителя холеры *El Tor* относительно начала седьмой пандемии [32]. Среди измененных штаммов *V. cholerae El Tor*, несущих классический ген *ctxB*, отмечена мутация в гене *rtxA* с аллелем I токсина MARTX, приводящая к инактивации ингибиции функции токсина, появлению генотипов штаммов *V. cholerae El Tor*, несущих варианты классического аллеля *ctxB-1* и *ctxB-7* и получивших распространение на многих континентах [34, 35].

Изменение структуры и функции генома *V. cholerae* O1 *El Tor* позволяет поставить вопрос о начале восьмой пандемии холеры 2010 (2011) г. Точкой отсчета при этом можно рассматривать беспрецедентную по своим масштабам эпидемию в регионе Карибского бассейна (Гаити), вызванную геновариантом *V. cholerae* O1 *El Tor*, на фоне чрезвычайных ситуаций природного и социального характера. Это событие явилось толчком к исследованиям штаммов холерных вибрионов, хранившихся в национальных коллекциях многих стран мира. К настоящему времени установлено, что вспышки или импортируемые случаи холеры, обусловленные измененными в геноме вариантами *V. cholerae* O1 *El Tor*, имели место с 1991 г. в странах Азии (Индия, Бангладеш, Мьянма, Таиланд, Шри-Ланка, Малайзия, Вьетнам, Китай, Гонконг, Япония, Кувейт, Непал, Узбекистан), Африки (Алжир, Марокко, Гвинея, Замбия, Занзибар, Ангола, Мозамбик и другие страны Восточного, Западного, Центрального и

Южного регионов), Европы (Румыния, Украина, Россия). Но наряду с этим отмечаются вспышки, вызванные штаммами, ответственными за седьмую пандемию: так, вспышки холеры Эль-Тор имели место несколько лет подряд наряду с классической холерой, занимая в мировой структуре от 19,8 (1961) до 92,2% (1966) только на азиатском континенте [36], с последующим поступательным пандемическим характером распространения. Только в 2002 г. появилось сообщение об исчезновении классического биовара *V. cholerae* O1 в южных штатах Бангладеш—Матлабе — последней нише, где он преобладал [37].

Наконец, если ориентироваться на сроки окончания («возвращение» холеры на историческую родину в Бенгалию) и начала пандемий (распространение по континентам мира), то существование временных и стойких эндемичных территорий не позволит нам говорить в обозримом будущем об окончании седьмой пандемии. Так, с 2007 по 2014 г. выявлено 19 стран с 52 административными территориями (в Азии, Африке и регионе Карибского бассейна), эндемичными по холере.

Рассматривая проблему на глобальном уровне, следует упомянуть о драматических событиях 1992 г., разыгравшихся на юге Индии, когда эпидемия холероподобного заболевания, вызванного тогда еще неустановленным возбудителем *V. cholerae* O139 серогруппы, в короткий срок распространилась по стране, а затем по территории Бангладеш. Эпидемия холеры Бенгал привлекла внимание исследователей во всем мире, что было связано с высокой вирулентностью возбудителя, выносом инфекции на территории других континентов [38]. По данным ВОЗ, с 1992 по 2012 г. поступила информация о 135 013 случаях холеры, вызванной *V. cholerae* O139 серогруппы.

Мониторинг эпидемических процессов при холере свидетельствует о неблагоприятной эпидемиологической обстановке в целом и неблагоприятном прогнозе для России в частности: страна по-прежнему подвержена завозу инфекции, что диктует необходимость скоординированного действия подсистем (информационно-аналитической, диагностической и управленческой) и всей системы эпидемиологического надзора в комплексе противохолевых мероприятий.

Основные направления дальнейшего совершенствования эпидемиологического надзора предусматривают исследование структур основных данных, используемых в системе, ориентированы на выработку научных обоснований к переходу на районирование входящих в субъекты муниципальных образований с получением определенного экономического эффекта. При этом мы исходили из теоретических основ эпидемиологического надзора, методологических подходов, в том числе новых результатов, полученных на этапах становления и совершенствования эпидемиологического надзора за холерой.

Наличие реальной угрозы импорта возбудителя холеры из стран, неблагоприятных по этой инфекции, определяет актуальность изучения структуры миграции населения и формирования социальных групп риска, а также наиболее вероятных направлений завоза инфекции из стран ближнего и дальнего зарубежья в различные по типам эпидемических проявлений холеры субъекты и их муниципальные образования. Исследование структуры подлежащих бактериологическому обследованию на холеру континентов с оценкой результатов по выявлению больных холерой и определением их эффективности предусмотрено не только в целях определения эпидпотенциала территории, но и для корректировки тактики в

этой части диагностической подсистемы эпидемиологического надзора, являющейся ее фундаментом.

В настоящее время продолжают исследования по изучению контаминации холерными вибрионами O1 и O139 серогрупп поверхностных водоемов I и II категорий. При определении эпидпотенциала территории следует учитывать и такую составляющую процесса, как оценка степени эпидемической опасности условий централизованного и нецентрализованного водоснабжения, рекреационного водопользования с применением методики [39], направленной на выявление потенциальных рисков возникновения вспышек холеры и других ОКИ с реализацией водного пути распространения возбудителей. Изучение структуры заболеваемости ОКИ установленной этиологии (брюшной тиф, дизентерия Флекснера, энтеровирусы, гепатит А, ротавирусы, норовирусы и др.), обусловленных реализацией основного — водного — пути распространения возбудителей инфекции, будет использовано для подтверждения фактических рисков, в частности факторов передачи возбудителей при ОКИ и потенциальных рисков при холере.

Результаты выполненных исследований будут использованы для определения эпидпотенциала территорий муниципальных образований, входящих в субъекты I, II и III типа (выборочно), по комплексу вышеуказанных

показателей и данных с дифференциацией мероприятий при эпидемиологическом надзоре за холерой.

### Заключение

Становление эпидемиологического надзора за холерой в Российской Федерации, достижения по его оптимизации и совершенствованию прошли определенные этапы развития. Каждый из них, начиная с 1970 г. по настоящее время, можно считать отправной точкой для дальнейших научных исследований, направленных на реализацию разноплановых задач по его совершенствованию для обеспечения биологической безопасности и санитарно-эпидемиологического благополучия населения страны.

На современном этапе цель, задачи и основные принципы эпидемиологического надзора за холерой в России согласуются с Международными медико-санитарными правилами (2005) и отвечают международным требованиям и нормам.

### Конфликт интересов

Авторы статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Комитет экспертов ВОЗ по холере: Второй доклад. М.: Медицина. 1968. 36 с.
2. Лванга С. Статистические принципы, лежащие в основе контрольного наблюдения и надзора в области общественного здравоохранения. *Бюллетень ВОЗ*. 1978; 56 (5): 560–568.
3. Беляков В.Д. Эпидемиологический надзор — основа современной организации противоэпидемической работы. *Журнал микробиологии*. 1985; 5: 53–58.
4. Мединский Г.М., Наркевич М.И., Сергиев В.П., Адамов А.К. Эпидемиологический надзор за холерой в СССР. Под ред. В.П. Сергиева. М.: Медицина. 1989. 144 с.
5. Мединский Г.М., Наркевич М.И., Ломов Ю.М., Пинигин А.Ф., Голубев Б.П., Алексеев В.В., Левчишина Г.И., Кюрегян А.А. Справочник-кадастр распространения вибрионов Эль-Тор в поверхностных водоемах и сточных водах на территории СССР во время 7-й пандемии холеры. *Ростов-на-Дону: МЗ СССР РПЧИ*. 1991. 172 с.
6. Бароян О.В., Бургасов П.Н., Гайлонская И.Н., Мединский Г.М. Экология холерных вибрионов. *Вестн. АМН СССР*. 1975; 2: 45–53.
7. Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Усенко Э.Г., Варивода А.Г., Парфенов А.Ю., Киреев Ю.Г. Эпидемическая ситуация по холере в мире: анализ и тенденция заболеваемости. *Журнал микробиологии*. 1994; 3: 34–39.
8. Холера в СССР в период седьмой пандемии. Под ред. В.И. Покровского. М.: Медицина. 2000. 472 с.
9. Кюрегян А.А., Огнева Н.С., Пономарева Т.Н., Арутюнов Ю.И. Характеристика штаммов холерных вибрионов O1 группы, выделенных из объектов окружающей среды на территории СССР в 1976–1987 гг. Актуальные вопросы микробиологии, лабораторной диагностики и профилактики холеры. Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. *Ростов-на-Дону*. 1988. С. 291–297.
10. Марамович А.С., Ганин В.С., Урбанович Л.Я., Погорелов В.И. Актуальные вопросы эпидемиологического надзора за холерой. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 1999; 5: 54–56.
11. Наркевич М.И., Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Подосинникова Л.С., Мединский Г.М., Кюрегян А.А. Седьмая пандемия холеры в мире и СССР. *Журнал микробиологии*. 1991; 6: 37–40.
12. Пинигин А.Ф. Закономерности циркуляции, выживаемости и изменчивости вибрионов Эль-Тор в воде открытых водоемов Сибири. Автореф. дис. ...канд. мед. наук. *Саратов*. 1983. 17 с.
13. Москвитина Э.А., Подосинникова Л.С., Квасов Е.М., Брудный Р.А., Монахова Е.В., Левкович А.А., Сердюкова В.Д., Косоева Л.А., Невенчанная Л.В., Капустина М.Д. Изучение эпидемической значимости холерных вибрионов, выделенных их различных экологических систем. *Журнал микробиологии*. 1990; 8: 62–66.
14. Наркевич М.И., Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Подосинникова Л.С., Мединский Г.М., Голубев Б.П. Типы эпидемических проявлений холеры в СССР. *Журнал микробиологии*. 1991; 8: 33–35.
15. Актуальные проблемы холеры. Под ред. В.И. Покровского, Г.Г. Онищенко. М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ. 2000. 384 с.
16. Подосинникова Л.С. Холерные вибрионы, выделенные на территории СССР в период седьмой пандемии. Автореф. дис. ...докт. мед. наук. *Саратов*. 1994. 44 с.
17. Онищенко Г.Г., Беляев Е.Н., Москвитина Э.А., Резайкин В.И., Ломов Ю.М., Мединский Г.М. Холера в Дагестане: прошлое и настоящее. *Ростов-на-Дону*. 1995. 120 с.
18. Онищенко Г.Г., Марамович А.С., Голубинский Е.П., Маслов Д.В., Вершкова Т.И., Урбанович Л.Я., Алленов А.В., Мурначев Г.П., Гарковенко Л.В., Воронок В.М. Холера на Дальнем Востоке России. Сообщ. 1. Эпидемиологическая характеристика вспышки холеры Эль-Тор в г. Владивостоке. *Журнал микробиологии*. 2000; 5: 26–31.
19. Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой. Санитарно-эпидемиологические правила. СП 3.1. 1086-02. М. 2002.
20. Международные медико-санитарные правила (2005). *Женева: ВОЗ*. 2006. 78 с.
21. Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Федоров Ю.М., Подосинникова Л.С., Горобец А.В. Холера в начале XXI века. *Журнал микробиологии*. 2005; 3: 44–48.

22. Cholera, 2003. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2004; 79 (31): 281–288.
23. Москвитина Э.А., Анисимова Г.Б., Беспалов И.А. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2003620048. Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в СНГ, Рос-сии. *М.* 2003.
24. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Мишанькин М.Б., Сучков И.Ю., Мишанькин Б.Н. Вариабельные тандемные повторы, выявленные при компьютерном анализе генома *Vibrio cholerae*. *Биотехнология.* 2001; 6: 85–88.
25. Мишанькин Б.Н., Водопьянов А.С., Ломов Ю.М. Мультилокусное VNTR-типирование культур холерных вибрионов, выделенных в Казани во время вспышки холеры летом 2001 года. *Журнал микробиологии.* 2003; 6: 11.
26. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Сучков И.Ю., Мишанькин Б.Н. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2007620389. Холера. Штаммы VNTR. 2007.
27. Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Жилина Н.Я., Подосинникова Л.С. Эпидемиологический надзор за холерой: обоснования к оценке его эффективности. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2005; 1 (89): 5–9.
28. Демографический энциклопедический словарь. Под ред. Д.И. Валентейс соавт. *М.: Современная Энциклопедия.* 1985. 608 с.
29. Черкасский Б.Л., Беляев Е.Н. Взаимосвязь систем эпидемиологического надзора и социально-гигиенического мониторинга. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2003; 4: 8–11.
30. Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой на территории Российской Федерации. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.1.2521–09. *М.* 2009.
31. Cholera, 2010. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2010; 86 (31): 325–340.
32. Olsvik O., Wahlberg J., Petterson B. et al. Use of automated sequencing of polymerase chain reaction-generated amplicons to identify three types of cholera toxin subunit B in *Vibrio cholerae* O1 strains. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31 (1): 22–25.
33. Chin C.S., Sorenson J., Harris J.B. et al. The origin of the Haitian cholera outbreak strain. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364: 33–42.
34. Katz L.S., Petkau A., Beaulaurier J. et al. Evolutionary dynamics of *Vibrio cholerae* O1 following a single-source introduction to Haiti. *mBio.* 2013; 4 (4): 00398–00413.
35. Dolores J., Satchell K.J.F. Analysis of *Vibrio cholerae* genome sequences reveals unique rtxA variants in environmental strains and an rtxA-null mutation in recent altered El-Tor isolates. *mBio.* 2013; 4 (2): 00624–00632.
36. Бароян О.В. Холера Эль-Тор. *М.: Медицина.* 1971. 254 с.
37. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A. et al. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40 (9): 3296–3299.
38. Waldor M.K., Mekalanos J.J. *Vibrio cholerae* O139 specific gene sequences. *Lancet.* 1994; 343: 1366.
39. Комплексная оценка риска возникновения бактериальных кишечных инфекций, передаваемых водным путем. Метод. е рекомендац. МР 2.1.10. 0031–11. *М.* 2011.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Онищенко Геннадий Григорьевич**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, помощник Председателя Правительства Российской Федерации

Адрес: 103274, Москва, Краснопресненская наб., д. 2, стр. 2, тел.: +7 (495) 985-54-86, e-mail: taruntaeva\_na@prf.gov.ru

**Москвитина Эльза Афанасьевна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией эпидемиологии особо опасных инфекций Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, д. 117/40, тел.: +7 (863) 234-38-17, e-mail: Elza\_epid@mail.ru

**Кругликов Владимир Дмитриевич**, кандидат медицинских наук, заместитель директора института по противоэпидемиологической работе, заведующий лабораторией микробиологии холеры Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, д. 117/40, тел.: +7 (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru

**Титова Светлана Викторовна**, кандидат медицинских наук, директор Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, д. 117/40, тел.: +7 (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru

**Адаменко Ольга Леонидовна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии особо опасных инфекций Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, д. 117/40, тел.: +7 (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru

**Водопьянов Алексей Сергеевич**, кандидат медицинских наук, руководитель группы вирусологии лаборатории биохимии микробов Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, д. 117/40, тел.: +7 (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru

**Водопьянов Сергей Олегович**, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией биохимии микробов Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, д. 117/40, тел.: +7 (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru

# Современные представления о микроспориidioзе человека

*Микроспориidioз — повсеместно распространенное оппортунистическое заболевание, обычно проявляющееся у пациентов с ослабленным иммунитетом: у больных СПИДом или реципиентов трансплантатов органов. Инфекционным агентом являются родственные грибам облигатные внутриклеточные паразиты — микроспоридии. Вместе с криптоспоридиями и представителями рода *Cytomegalovirus* данные паразиты представляют собой самых распространенных возбудителей диареи у ВИЧ-инфицированных больных. Чаще всего наблюдается кишечная форма микроспориidioза, однако данные патогены могут поражать практически все органы человеческого организма: глаза, легкие, мышцы, органы нервной системы. В обзоре представлены актуальные данные об этиологии, патогенезе, эпидемиологии, клинических признаках, диагностике, современных методах и перспективах лечения микроспориidioза.*

**Ключевые слова:** микроспоридии, микроспориidioз, оппортунистические инфекции, паразитарные заболевания, иммунодефицит.

(Для цитирования: Тимофеев С.А. Современные представления о микроспориidioзе человека. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 257–263. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1321)

## Этиология и патогенез

Возбудители инфекционных заболеваний — микроспоридии (тип *Microsporidia*) — облигатные внутриклеточные паразиты билатеральных животных практически всех систематических групп, а также некоторых одноклеточных эукариот (протистов). Описано около 1300 видов и 160 родов [1], 15 видов могут заражать человека (табл.). Молекулярно-филогенетические исследования демонстрируют родство микроспоридий с грибами, однако систематическое положение данной группы до настоящего времени остается предметом дискуссий. Согласно мнению одних исследователей, микроспоридии рассматривают как отдел в составе царства грибов [1, 2], согласно данным других — как тип родственных грибам простейших [3, 4]. Из-за разночтений в классификации этих патогенов возникают и несоответствия в классификации вызываемых ими заболеваний: согласно международной классификации болезней 10-го пересмотра, микроспориidioз — это протозойная инфекция [5], тогда как в предметных рубриках национальной медицинской библиотеки США данное заболевание определяется как микоз [6].

Единственной стадией жизненного цикла микроспоридий, способной существовать вне клетки хозяина, являются микроскопические (длиной 2–7 микрон) споры, имеющие уникальное строение (рис. 1). В споре под слоями хитиновой и гликопротеиновой защитной оболочки находится зародыш (спороплазма) и сложно организованный аппарат экстрезии, осуществляющий внедрение инвазионного начала в клетку хозяина. Характерной чертой спор микроспоридий служит спирально уложенная под оболочкой полярная трубка. При экстрезии споры полярная трубка выбрасывается наружу и пробивает мембрану инфицируемой клетки. По каналу данной органеллы в клетку хозяина вбрасывается спороплазма [3].

Заражение человека часто происходит при попадании спор в пищеварительный тракт. Внедрившись внутрь клетки хозяина, зародыш интенсивно растет и размножается путем бинарного или множественного деления, проходящего по типу мерогонии (бесполое размножение). Многие виды имеют 2 последовательных мерогонии. Следующий этап размножения — спорогония — в конечном счете приводит к образованию большого числа новых спор. На этапе заселения всего объема цитоплазмы обычно происходит разрушение оболочки

S.A. Timofeev

All-Russian Institute for Plant Protection, St. Petersburg, Russian Federation

## Current Concepts of Human Microsporidiosis

*Microsporidiosis is an ubiquitous opportunistic disease that usually appears in immunocompromised patients: AIDS patients or organ-transplant recipients. The infectious agents of disease are fungi-related obligate intracellular parasites — microsporidia. Alongside with Cryptosporidium and Cytomegalovirus, these parasites are the most common causative agents of diarrhea in HIV-infected patients. Intestinal form of microsporidiosis has been most frequently observed, but microsporidia can affect almost any organs of the human body, eyes, lungs, muscles, organs of the nervous system. The present paper overviews the current data on the etiology, pathogenesis, epidemiology, clinical presentation, diagnosis and treatment methods of microsporidiosis.*

**Key words:** microsporidia, microsporidiosis, opportunistic infections, parasitic diseases, immunodeficiency.

(For citation: Timofeev S.A. Current Concepts of Human Microsporidiosis. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 257–263. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1321)



**Таблица.** Патогенные для человека виды микроспоридий по данным центров по контролю и профилактике заболеваний США [2].

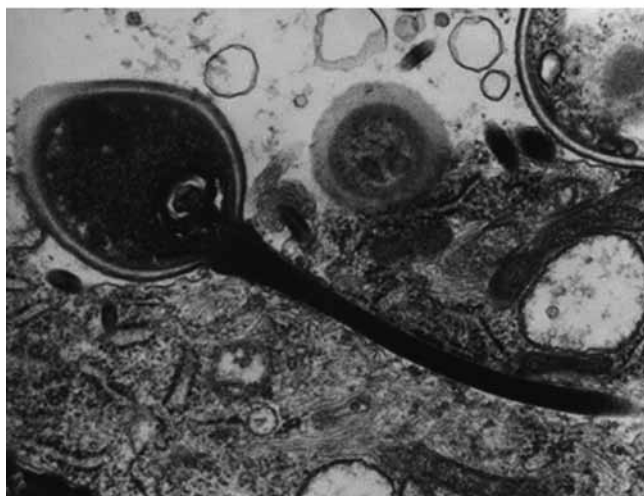
Вид микроспоридии	Основные симптомы микроспоридиоза
<i>Anncaliia algerae</i>	Кератоконъюнктивит, инфекции мышц и кожи
<i>Enterocytozoon bienersi</i>	Диарея, бескаменный холецистит
<i>Encephalitozoon cuniculi</i> и <i>Encephalitozoon hellem</i>	Кератоконъюнктивит, инфекция дыхательных и мочеполовых путей, поражения нервной системы, диссеминированная инфекция
<i>Encephalitozoon intestinalis</i> (сун. <i>Septata intestinalis</i> )	Поражение желудочно-кишечного тракта, вызывающее диарею и сопровождающиеся диссеминацией в глаза, мочеполовые и дыхательные пути
<i>Microsporidium</i> ( <i>M. ceylonensis</i> и <i>M. africanum</i> )	Поражение роговицы
<i>Nosema ocularum</i> , <i>Anncaliia connori</i>	Глазные инфекции
<i>Pleistophora pp</i>	Миозит
<i>Trachipleistophora anthropophthera</i>	Диссеминация по организму, поражение мышц, легких, глаз, нервной системы
<i>Trachipleistophora hominis</i>	Миозит, стромальный кератит, диссеминация
<i>Tubulinosema acridophagus</i>	Миозит, диссеминация, поражение печени, легких, кожи
<i>Vittaforma corneae</i> (сун. <i>Nosema corneum</i> )	Глазные инфекции, инфекции мочевыводящих путей
<i>Anncaliia</i> ( <i>Brachiola</i> ) <i>vesicularum</i>	Миозит

клетки хозяина и выход спор для заражения других клеток того же организма или для заражения других особей (рис. 2 а, б). Патогенез микроспоридиоза обусловлен в первую очередь разрушением зараженных клеток и дегенеративными процессами в зоне инвазии, приводящими к нарушению функционирования пораженного органа или ткани. Поскольку большинство случаев микроспоридиоза, за исключением глазных инфекций, описаны у людей с ослабленным иммунитетом, воспалительные процессы обычно выражены слабо [8].

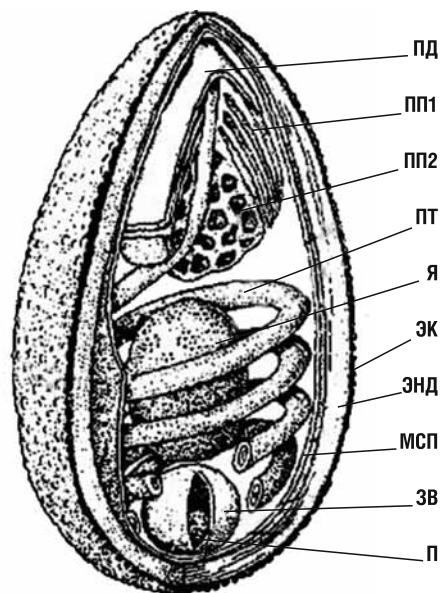
Заражение эпителия кишечника микроспоридиями *Enterocytozoon bienersi* и *Encephalitozoon intestinalis* сопровождается патологической гиперплазией крипт кишечника, уплощением энтероцитов и потерей ими микроворсинок, что может на 40% уменьшать эффективную поверхность всасывания [8]. *E. intestinalis* также способен поражать макрофаги и фибробласты, что приводит к диссеминации патогена по всему организму и поражению других систем органов [9]. Инфекции желчных путей могут быть связаны с папиллярным стенозом, дилатацией желчных протоков, бескаменным холециститом и склерозирующим холангитом [10]. Инфекции печени *Encephalitozoon spp.*

могут привести к гранулематозному некрозу или негранулематозной воспалительной реакции в паренхиме печени [8]. При поражении почек наблюдается гранулематозный тубулоинтерстициальный нефрит с воспалительным инфильтратом макрофагов, лимфоцитов, плазматических клеток и клеток Ланганса [10]. Легочные формы микроспоридиоза обычно сопровождается бронхитом с инфильтрацией эпителия лимфоцитами, также могут наблюдаться множественные абсцессы преимущественно в субплевральных областях [11]. *Pleistophora spp.* приводят к атрофии мускулатуры и образованию многочисленных дегенеративных зон в мышечных волокнах [10]. Поражение центральной нервной системы *Encephalitozoon cuniculi* приводит к развитию гранулематозного энцефалита [12]. Инфицирование глаз различными видами микроспоридий, например *Vittaforma corneae* или *Trachipleistophora hominis*, может вызывать стромальный кератит или кератоконъюнктивит [13]. В этих случаях распространение паразитов обычно ограничено верхними слоями роговицы, однако, по данным 2013 г., зарегистрировано уже 2 случая проникновения микроспоридий за десцеметову оболочку [14].

258



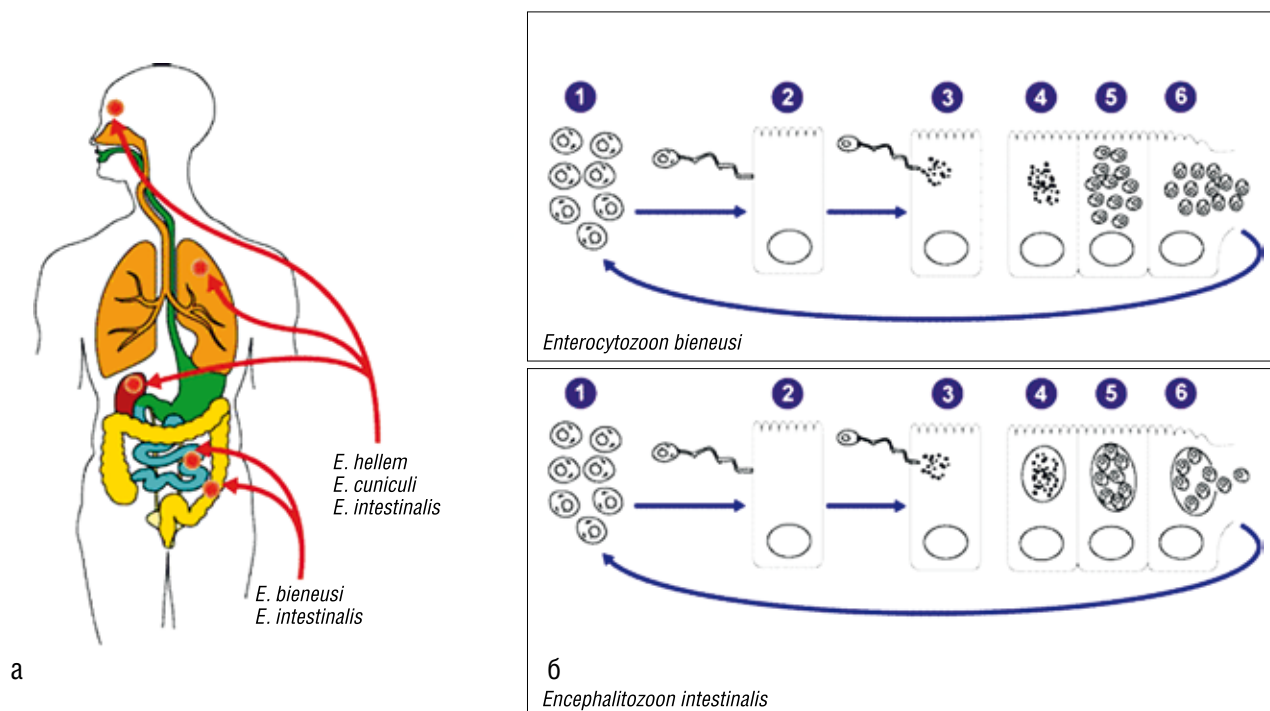
а



б

**Рис. 1.** Морфология спор микроспоридий.

*Примечание.* а — электронная микрофотография споры микроспоридии с выброшенной полярной трубкой, внедренной в эукариотическую клетку [7]; б — схема строения споры микроспоридий [3]. ПД — полярный диск; ЗВ — задняя вакуоль; П — постеросома; ПТ — полярная трубка; ПП 1,2 — передняя пластинчатая и задняя мелкокамерная часть поляропласта; ЭК — экзоспора; ЭНД — эндоспора; МСП — цитоплазматическая мембрана; Я — ядро зародыша (спороплазмы).



**Рис. 2.** Очаги инфекций, вызываемых микроспоридиями родов *Enterocytozoon* и *Encephalitozoon* (а) и жизненный цикл *Enterocytozoon bienewsi* и *Encephalitozoon intestinalis* (б). Адапт. из [7].

**Примечание.** 1 — споры микроспоридий, способные к сохранению инвазионного начала во внешней среде; 2, 3 — экструзия споры и заражение клетки хозяина; 4–6 — рост, развитие и размножение паразита, приводящие к разрушению клетки хозяина и выходу множества новых спор для заражения других клеток того же организма или для заражения других людей.

**Эпидемиологические данные**

**География и распространенность**

Микроспориоз человека — повсеместно распространенная инфекция (рис. 3). До 1980-х гг. описания случаев микроспориоза у людей встречались редко. Распространенность определялась на основе серологических данных для *E. cuniculi* — единственного вида, выделенного на тот момент у млекопитающих. Распространенность данного серотипа в разных странах колебалась от 0 до 42%. Самые высокие показатели зафиксированы в Швеции среди гомосексуалистов и больных другими паразитарными заболеваниями [23]. Расширение пандемии СПИДа привело к идентификации нескольких новых видов микроспоридий, патогенных для человека. С 1990-го г. распространенность микроспоридиальных инфекций у больных СПИДом, по разным оценкам, варьирует от 1,5 до 50% в зависимости от географического региона и применяемых диагностических методов [8].

В настоящее время в развивающихся странах распространенность микроспоридий у больных СПИДом значительно выше, чем в развитых [8]. Наибольшее число случаев поражения микроспоридиями иммунокомпетентных взрослых людей (чаще всего связанных с инфекцией глаз) описано в Индии и близлежащих странах Азии [13]. У групп населения, подверженных оппортунистическим инфекциям, но не больных СПИДом, например у доноров крови, беременных, работников скотоубойни или пациентов с диареей неустановленного происхождения, распространенность микроспоридий оценивается в 1,3–22% [23]. Сходный уровень заболеваемости микроспориозом у ВИЧ-отрицательных субъектов зарегистрирован среди туристов в эндемичных зонах (3,3–10%), страдающих диареей детей (1,7–17,4%) и пожилых людей (17,2%) [8].

**Пути передачи инфекции и источники заражения человека**

Наличие микроспоридий в дыхательном и кишечном тракте инфицированных людей и выведение спор с мочой и калом свидетельствует о возможности передачи микроспоридий от человека к человеку фекально-оральным, орально-оральным путем или при вдыхании [23]. Высокая распространенность антител к *E. cuniculi* у гомосексуалистов, а также выявление микроспоридий в уретре и простате больных СПИДом при уретическом или простатическом абсцессе свидетельствуют о возможности передачи микроспоридий половым путем [8]. Вертикальная передача микроспоридий от матери к плоду наблюдается у животных, однако у человека подобных случаев не описано [23]. Зафиксирован случай микроспориоза у ВИЧ-инфицированного новорожденного 17-дневного возраста, однако в данном случае, вероятно, имела место горизонтальная передача при близком контакте с больной микроспориозом матерью [24].

Важную роль в распространении микроспориозов играют животные. Споры *E. bienewsi* и *E. intestinalis* выявлены у домашних и сельскохозяйственных животных (собак, кошек, свиней, коз, ослов, крупного рогатого скота, кроликов). Споры *E. bienewsi* также обнаружены у диких млекопитающих (лис, выдр, нутрий, енотов) и птиц (в промышленном птицеводстве и у голубей, живущих в городских районах) [25]. Споры *Pleistophora spp.* выделены из рыб, *E. hellem* найден у птиц, *E. cuniculi* часто встречается у кроликов и собак [8]. Известны случаи заражения микроспориозом при употреблении в пищу плохо термически обработанного мяса зараженных животных [23].

Специфическими хозяевами патогенной для человека микроспоридии *Anncaliia (Brachiola) algerae* являются кровососущие комары, что предполагает возможность векторной передачи микроспориоза. В пользу этого



**Рис. 3.** Географическое распространение микроспоридиоза.

*Примечание.* Официально зарегистрированы случаи заболевания в Австралии и Новой Зеландии [10]; Европе — в Португалии [8], России, Швеции, Италии, Франции, Германии, Испании [15], Нидерландах, Великобритании [10], Польше [16]; Азии — в Индии, Тайланде, Турции, Вьетнаме, Малайзии, Сингапуре [8], Шри-Ланке [13], Китае, Японии [17], Саудовской Аравии [18], Иране [19], Пакистане [20]; Африке — в Тунисе, Мали, Уганде, Сенегале, Зимбабве, Гвинее, Камеруне, Эфиопии, Нигере, Конго [8], Египте, ЮАР, Ливии, Замбии, Сенегале [21], Чаде [22]; Северной и Южной Америке — в Венесуэле [8], США, Канаде, Мексике, Бразилии, Аргентине, Перу, Чили [21].

260

также свидетельствует обнаружение микроспоридий рода *Encerphalitozoon spp.* в эпителиальных клетках тонкого кишечника человека и слюнных железах двух видов иксодовых клещей [8]. Зафиксированы случаи заражения человека микроспоридией *Tubulinosema acridophagus*, основной хозяин которой — американская саранча *Schistocerca americana*, не имеющая прямых трофических связей с человеком [26].

Микроспоридиоз может передаваться через загрязненную воду. Благодаря малым размерам и наличию мощных защитных оболочек, споры микроспоридий устойчивы ко многим методам дезинфекции воды (например, к хлорированию) и часто не задерживаются при фильтрации. Споры различных видов микроспоридий обнаруживали в природных водоемах, бассейнах, водопроводной и питьевой воде [8, 23, 27].

**Факторы риска**

Основным фактором риска развития микроспоридиоза является угнетение клеточно-опосредованного иммунитета при ВИЧ-инфекции. Обычно микроспоридиоз связан с терминальными стадиями заболевания при падении численности CD4<sup>+</sup> клеток <100 кл/мм<sup>3</sup> [15, 28]. Еще одним важнейшим фактором риска служит ослабление иммунитета при трансплантации органов [29–33].

Основными группами риска среди иммунокомпетентных людей являются туристы и путешественники, в особенности в тропической зоне, пожилые люди и дети, а также лица, носящие контактные линзы [33–35].

**Микроспоридиоз в России**

Первое сообщение об обнаружении микроспоридий у ВИЧ-инфицированных пациентов в Российской Федерации появилось в 2002 г. [36]. В настоящее время все имеющиеся в литературе данные о распростране-

нии микроспоридиоза в России представлены несколькими исследованиями, выполненными на базе Санкт-Петербургской инфекционной больницы № 30 им. С.П. Боткина. Серологический анализ крови 46 ВИЧ-инфицированных пациентов показал наличие антител к *E. hellem* у 9 (19,6%), *E. intestinalis* — у 4 (8,7%), *E. bienewisi* — у 6 (13,0%), *E. cuniculi* — у 5 (10,9%) пациентов, соответственно [37]. По данным исследования, выполненного с помощью гистохимических методов, ПЦР и секвенирования, микроспоридии обнаружены у 30 (19%) из 159 ВИЧ-инфицированных пациентов, причем подавляющее большинство людей (*n* = 21) оказались поражены *E. intestinalis*, хотя обычно самым распространенным видом микроспоридий у людей является *E. bienewisi*. Преимущественное заражение микроспоридией *E. intestinalis* — видом с выраженной природной очаговостью среди млекопитающих, в т.ч. у собак и кошек, по мнению авторов, свидетельствует о преобладании зоонозного пути распространения микроспоридиоза в России [15, 28, 38].

**Клинические признаки**

Клинические проявления микроспоридиоза зависят от вида паразита, очага инфекции и иммунного статуса хозяина (см. рис. 2а). У людей с ослабленным иммунитетом чаще всего наблюдают заболевания желудочно-кишечного тракта [8–10], а у иммунокомпетентных — поражения глаз [13, 39].

Чаще всего микроспоридиоз желудочно-кишечного тракта вызывает *E. bienewisi*, гораздо реже — *E. intestinalis* и в наиболее редких случаях — *E. cuniculi* [8]. Главным проявлением поражения микроспоридиями пищеварительной системы у лиц с ослабленным иммунитетом является диарея. Наряду с криптоспоридиями и представителями рода *Cytomegalovirus* микроспоридии слу-



жат самыми распространенными возбудителями диареи у ВИЧ-инфицированных больных [15]. Стул при микроспориозе обычно водянистый и не содержит крови и слизи. Диарея, как правило, развивается постепенно и прогрессирует в течение нескольких месяцев. Она может быть ассоциирована с тошнотой, потерей аппетита, рвотой, болью в животе, лихорадкой и прогрессирующей потерей веса. В наиболее тяжелых случаях обезвоживание организма приводит к кахексии. Зафиксировано несколько случаев бессимптомного заболевания кишечным микроспориозом у ВИЧ-инфицированных пациентов [40].

У иммунокомпетентных лиц микроспориоз желудочно-кишечного тракта наблюдается редко, преимущественно у людей, вернувшихся из поездок в тропические зоны. Симптомы, как правило, ограничиваются спонтанно возникающей регрессивной диареей [8].

Второй по распространенности локализацией инфекции после поражения пищеварительной системы является микроспориоз глаз, который чаще всего приводит к развитию стромального кератита или кератоконъюнктивита [13, 18, 39]. Основные симптомы представляют собой боль, покраснение глаз, светобоязнь, слезотечение и нечеткость зрения. Продолжительность болезни колеблется от 4 сут до 18 мес, в зависимости от иммунного статуса пациента и методов лечения [18].

Случаи поражения микроспоридами печени связаны с видами *E. intestinalis*, *E. cuniculi* и *Trachipleistophora hominis*. Клинические проявления обычно выражены гепатитами, перитонитами, острой печеночной недостаточностью [8].

Заражение головного мозга *E. cuniculi* приводит к развитию гранулематозного энцефалита [12]. Симптомы могут проявляться в виде головной боли, тошноты, рвоты, спастических судорог, припадков, изменения психического состояния. Зафиксировано 2 случая заболевания энцефалитом микроспориальной природы у иммунокомпетентных людей. При диссеминации патогена по всему организму органы нервной системы могут также поражать другие виды микроспориций, например *Trachipleistophora spp.* [12].

Микроспориозы желчевыводящих путей встречаются нечасто и обычно связаны с заражением *E. bienersi* или *E. intestinalis*. Эти 2 вида выделены из желчного пути у ВИЧ-инфицированных пациентов с бескаменным холециститом или холангитом. Клинические признаки, в дополнение к хронической диарее, включают боль в животе, преобладающую в правом подреберье; иногда возникает желтуха [8]. Имеет место дилатация главного желчного протока и внутрипеченочных протоков, нарушение целостности стенок желчных протоков, утолщение стенок и вздутие желчного пузыря, а также папиллярный стеноз [8, 10].

При диссеминации микроспориций по всему организму возможно появление самых разнообразных симптомов. Чаще всего встречаются почечная недостаточность, лихорадка, кератоконъюнктивит, синусит, респираторные и неврологические заболевания [41].

### Диагностика

Для диагностики микроспориоза используют серологические методы определения антител к различным видам микроспориций (иммуноферментный, иммунофлуоресцентный анализ), а также различные методики обнаружения и идентификации спор микроспориций: световую и электронную микроскопию, непрямую флюо-

ресценцию, ПЦР и секвенирование [37, 38, 42]. В качестве образцов для анализа в зависимости от предполагаемой локализации инфекции используют пробы стула пациента, различных биологических жидкостей: мочи, мокроты, спинномозговых секретов, мази конъюнктивы, различные биоптаты, соскобы тканей. Для молекулярных методов диагностики обычно отбирают свежий материал, для микроскопических методов материал фиксируют в слабых растворах формалина или глутаральдегида [42].

В связи с небольшим размером спор микроспориций они не могут быть идентифицированы в образцах с помощью световой микроскопии без специального окрашивания. Наиболее часто используемым и эффективным методом окраски для обнаружения спор микроспориций является окраска трихромом по Веберу [8, 42]. Споры выявляются как овальные структуры розового цвета, с бесцветным участком на одном из полюсов, соответствующим задней вакуоли. Фон окрашивается синим или зеленым в зависимости от метода контрастирования (могут использоваться красители Fast Green, малахитовый зеленый или анилин синий) [8]. Споры также могут быть обнаружены путем окрашивания хитина — основного компонента их оболочки флуоресцентными красителями, такими как Calcofluor white, M2R и UVITEX 2B [8]. Возможно использование красителя Гимза, придающего спорам микроспориций голубой цвет, однако специфичность этой методики гораздо ниже, чем при окрашивании трихромом [42].

Для идентификации конкретного вида микроспориций в настоящее время обычно используют методики простой или количественной ПЦР, непрямой флуоресценции. Электронная микроскопия применяется реже из-за трудоемкости процесса и меньшей эффективности, однако остается единственным методом, позволяющим получить данные ультраструктуры, без которых описание нового вида микроспориций невозможно. Серологические методы чаще используют в совокупности с другими методиками, поскольку сами по себе они часто дают ложноположительные результаты [8, 15, 42].

### Лечение

Дважды самыми распространенными и эффективными препаратами, применяемыми при микроспориозе, являются альбендазол и фумагиллин [8, 31, 43]. Альбендазол — антипаразитарный препарат бензимидазольного ряда широкого спектра действия. Метаболизируясь в печени, препарат превращается в более активную форму — сульфоксид альбендазола, который быстро распространяется по всему организму, что позволяет применять его для лечения диссеминированных инфекций [43]. Альбендазол специфически воздействует на сайт связывания колхицина β-тубулина и блокирует полимеризацию и сборку микротрубочек, взаимодействуя при этом лишь с определенной аминокислотной последовательностью, которая отсутствует в β-тубулине человека. Однако оказалось, что у *E. bienersi* присутствует аминокислотная замена в сайте связывания альбендазола, что делает применение данного препарата против этого вида крайне малоэффективным [44].

Фумагиллин — антибиотик, выделенный из грибка *Aspergillus fumigatus*. Данный препарат блокирует действие жизненно необходимого микроспоридам фермента метионинаминопептидазы-2 (MetAP2), участвующего в посттрансляционной модификации белков паразита [44]. Эффективность препарата крайне высока, однако его применение сопряжено с серьезными побочными эффек-



тами. Препарат оказывает токсическое действие на ткани костного мозга, воздействуя на клетки мегакариоцитарной линии и линии миелоидных предшественников. В качестве нежелательных явлений чаще всего встречаются тромбоцитопения и нейтропения. Кроме того, применение фумагиллина может вызывать боль в животе, диарею и рвоту [8]. Для микроспоридии *Nosema ceranae*, паразита медоносной пчелы, было показано формирование устойчивости к фумагиллину, что говорит о возможности возникновения подобной резистентности у патогенов человека [45]. В качестве аналога фумагиллина рассматривают полусинтетический препарат TNP-470 (AGM-1470). Он также блокирует действие MetAP2, однако является менее токсичным. Сейчас препарат проходит испытание на животных, и для лечения людей еще не применялся [8, 46].

Перспективным направлением для разработки новых методов лечения микроспоридиоза является расшифровка особенностей энергетического метаболизма микроспоридий. Многие известные в настоящее время ферменты метаболической системы микроспоридий, такие как АТФ-переносчики пластидно-бактериального типа, яв-

ляются уникальными для данного таксона и отсутствуют у человека, что делает их удобными потенциальными мишенями для воздействия терапевтических средств [47, 48].

### Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 14-04-31783-мол\_а, 13-04-00693-а).

### Конфликт интересов

Автор данной статьи подтвердил отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### Выражение признательности

Автор выражает благодарность Ирме Викторовне Исси и Юрию Сергеевичу Токареву за предоставленный иллюстративный материал, а также за критическую оценку и правку рукописи статьи.

### ЛИТЕРАТУРА

- Keeling P. Five Questions about Microsporidia. *PLoS Pathogens*. 2009; 5 (9): 1–3.
- Keeling P.J., Luker M.A., Palmer J.D. Evidence from beta-tubulin phylogeny that microsporidia evolved from within the fungi. *Mol. Biol. Evol.* 2007; 17: 23–31.
- Исси И.В., Воронин В.Н. Тип Microsporidia — Микроспоридии. В кн.: Протисты = Protista. Рук-во по зоологии. Под ред. А.Ф. Алимова СПб: РАН. 2007. С. 994–1045.
- Vavra J., Lukes, J. Microsporidia and «The Art of Living Together». In: *Advances in Parasitology*. D. Rollinson (ed.). *New York: Academic Press*. 2013. P. 253–320.
- Microsporidiosis. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems. URL: <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2010/en#/B60.8> (available: 14.01.2015).
- MeSH Browser. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 2014. Microsporidiosis. URL: [http://www.nlm.nih.gov/cgi/mesh/2014/MB\\_cgi?field=uid&term=D016881](http://www.nlm.nih.gov/cgi/mesh/2014/MB_cgi?field=uid&term=D016881) (available: 14.01.2015).
- Microsporidiosis. USA: Centers for Disease Control and Prevention (updated November 29, 2013). URL: <http://www.cdc.gov/dpdx/microsporidiosis/index.html> (available: 14.01.2015).
- Anane S., Attouchi H. Microsporidiosis: Epidemiology, clinical data and therapy. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 2010; 34 (8–9): 450–464.
- Didier E.S., Weiss L.M. Microsporidiosis: current status. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2006; 19: 485–492.
- Weber R., Bryan R.T., Schwartz D.A., Owen R.L. Human microsporidial infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 1994; 7: 426–461.
- Бродская О.Н. Роль простейших в патологии легких. *Атмосфера. Пульмонология и аллергология*. 2009; 3: 56–59.
- Ashfaq A., White A. Microsporidiasis. In: *Handbook of Clinical Neurology. Neuroparasitology and Tropical Neurology*. Vol. 114. *Amsterdam: Elsevier*. 2013. P. 183–191.
- Sharma S., Das S., Joseph J., Vemuganti G.K., Murthy S. Microsporidial keratitis: need for increased awareness. *Surv. Ophthalmol.* 2011; 56 (1): 1–22.
- Murthy S.I., Sangit V.A., Rathi V.M., Vemuganti G.K. Microsporidial spores can cross the intact Descemet membrane in deep stromal infection. *Middle East Afr. J. Ophthalmol.* 2013; 20 (1): 80–82.
- Яковлев А.А., Соколова О.И. Проблема микроспоридиальных инфекций человека: первое исследование распространения кишечных микроспоридиозов среди ВИЧ-инфицированных пациентов в России. *Медицина. XXI век*. 2008; 13: 58–62.
- Bednarska M., Bajer A., Welc-Faleciak R., Czubkowski P., Teisseyre M., Graczyk T.K. The first case of *Enterocytozoon bienewsi* infection in Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2013; 20 (2): 287–288.
- Abe N., Kimata I., Iseki M. Molecular evidence of *Enterocytozoon bienewsi* in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 2009; 71 (2): 217–219.
- Alkatan H. M., Al-Zaaidi S., Athmanathan S. Microsporidial keratitis: Literature review and report of 2 cases in a tertiary eye care center. *Saudi J. Ophthalmol.* 2012; 26 (2): 199–203.
- Agholi M., Hatam G.R., Motazedian M.H. Microsporidia and coccidia as causes of persistence diarrhea among liver transplant children: incidence rate and species/genotypes. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2013; 32 (2): 185–187.
- Yakoob J., Abbas Z., Beg M.A., Jafri W., Naz S., Khalid A., Khan R. Microsporidial infections due to *Encephalitozoon intestinalis* in non-HIV-infected patients with chronic diarrhoea. *Epidemiol. Infect.* 2012; 140 (10): 1773–1779.
- Bryan R., Schwartz D. Epidemiology of Microsporidiosis. In: *The Microsporidia and Microsporidiosis*. M. Wittner, L. Weiss (eds.). *Washington: ASM Press*. 1999. P. 502–516.
- Raccurt C.P., Agnamey P., Sarfati C., Chouaki T., Totet A. Intestinal microsporidiosis due to *Enterocytozoon bienewsi* in a patient infected with HIV-1: first reported case in Chad. *Med. Trop. (Mars)*. 2008; 68 (3): 307–308.
- Didier E.S., Stovall M.E., Green L.C., Brindley P.J., Sestak K., Didier P.J. Epidemiology of microsporidiosis: sources and modes of transmission. *Vet. Parasitol.* 2004; 126: 145–166.
- Abdelmalek R., Anane S., Chabchoub N., Essid R., Aoun K., Chaabéne T.B., Bouratbine A. Microsporidia and cryptosporidia coinfection in an HIV-infected newborn. *Arch. Pediatr.* 2011; 18: 562–564.
- Sharpstone D., Neild P., Crane R., Taylor C., Hodgson C., Sherwood R., Gazzard B., Bjarnason I. Small intestinal transit, absorption and permeability in patients with AIDS with and without diarrhea. *Gut*. 1999; 45: 70–76.
- Choudhary M.M., Metcalfe M.G., Arrambide K., Bern C., Visvesvara G.S., Pieniazek N.J., Banda R.D., DeLeon-Carnes M., Adem P., Choudhary M.M., Zaki S.R., Saeed M.U. Tubulinosema sp. microsporidial myositis in immunosuppressed patient. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17 (9): 1727–1730.

27. Izquierdo F., Castro Hermida J. A., Fenoy S., Mezo M., González-Warleta M., del Aguila C. Detection of microsporidia in drinking water, wastewater and recreational rivers. *Water Res.* 2011; 45 (16): 4837–4843.
28. Соколова О.И., Демьянов А.В., Боурс Л.С., Дидье Е.С., Скарлатто С.О., Соколова Ю.Я., Яковлев А.А. Микроспориоз у ВИЧ-инфицированных пациентов. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2011; 3 (3): 63–70.
29. Nagpal A., Pritt B.S., Lorenz E.C., Amer H., Nasr S.H., Cornell L.D., Iqbal S., Wilhelm M.P. Disseminated microsporidiosis in a renal transplant recipient: case report and review of the literature. *Transpl. Infect Dis.* 2013; 15 (5): 526–532.
30. Hocevar S. N., Paddock C. D., Spak C. W., Rosenblatt R., Diaz-Luna H., Castillo I., Luna S., Friedman G.C. Microsporidiosis acquired through solid organ transplantation: a public health investigation. *Ann. Intern. Med.* 2014; 160 (4): 213–220.
31. Desoubreux G., Maakaroun-Vermesse Z., Lier C., Bailly E., Morio F., Labarthe F., Bernard L., Chandenier J. Successful treatment with fumagillin of the first pediatric case of digestive microsporidiosis in a liver kidney transplant. *Transpl. Infect Dis.* 2013; 15 (6): 250–259.
32. Dacha S., Pham D., Cai Q. Microsporidiosis: an unusual endoscopic finding. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2014; 12 (5): 37–38.
33. Didier E.S., Weiss L.M. Microsporidiosis: not just in AIDS patients. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2011; 24 (5): 490–495.
34. Fernandes M., Sharma S. Polymicrobial and microsporidial keratitis in a patient using Boston scleral contact lens for Sjogren's syndrome and ocular cicatricial pemphigoid. *Cont. Lens Anterior. Eye.* 2013; 36 (2): 95–97.
35. Theng J., Chan C., Ling M. L., Tan D. Microsporidial keratoconjunctivitis in a healthy contact lens wearer without human immunodeficiency virus infection. *Ophthalmology.* 2001; 108 (5): 976–978.
36. Соколова О.И. Выявление микроспориоза у ВИЧ-инфицированных пациентов в клинической инфекционной больнице им. С.П. Боткина. Мат-лы 7-й Ассамблеи молодых ученых и специалистов. *СПб: СПбГУ.* 2002. С. 55.
37. Kucerova Z., Sokolova O.I., Demyanov A.V., Kvac M., Sak B., Kvetonova D., Secor W.E. Microsporidiosis and Cryptosporidiosis in HIV/AIDS Patients in St. Petersburg, Russia: Serological identification of microsporidia and *Cryptosporidium parvum* in sera samples from HIV/AIDS patients. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2011; 27 (1): 13–15.
38. Sokolova O.I., Demyanov A.V., Bowers L.C., Didier E.S., Yakovlev A.V., Skarlatto S.O., Sokolova Y.Y. Emerging microsporidian infections in Russian HIV-infected patients. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49 (6): 2102–2108.
39. Tham A.C., Sanjay S. Clinical spectrum of microsporidial keratoconjunctivitis. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2012; 40 (5): 512–518.
40. Bettens S., Gigi J., Delmée M. Les infections à microsporidies. *Louv. Med.* 1999; 118: 446–456.
41. Fournier S., Liguory O., Sarfati C., David-Ouaknine F., Derouin F., Decazes J.M., Molina J.M. Disseminated infection due to *Encephalitozoon cuniculi* in a patient with AIDS: case report and review. *HIV Med.* 2000; 1: 155–161.
42. Garcia L.S. Laboratory identification of the microsporidia. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40 (6): 1892–1901.
43. Didier E.S., Maddry J.A., Brindley P.J., Stovall M.E., Didier P.J. Therapeutic strategies for human microsporidia infections. *Exp. Rev. Infect. Ther.* 2005; 3: 419–434.
44. Akiyoshi D.E., Weiss L.M., Feng X., Williams B.A., Keeling P.J., Zhang Q., Tzipori S. Analysis of the beta-tubulin genes from *Enterocytozoon bienersi* isolates from a human and rhesus macaque. *J. Eukaryot. Microbiol.* 2007; 54 (1): 38–41.
45. Huang W.F., Solter L.F., Yau P.M., Imai B.S. *Nosema ceranae* escapes fumagillin control in honey bees. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (3): 1003185.
46. Didier P.J., Philips J.N., Kuebler D.J., Nasr M., Brindley P.J., Stovall M.E., Bowers L.C., Didier E.S. Antimicrosporidial activities of Fumagillin, TNP-470. Ovalicin and Ovalicin derivatives in vitro and in vivo. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50: 2146–2155.
47. Долгих В.В., Сендерский И.В., Павлова О.А., Наумов А.М. Уникальные особенности энергетического обмена микроспоридий как результат длительной адаптации к внутриклеточному развитию. *Паразитология.* 2011; 42 (5): 147–157.
48. Williams B.A., Elliot C., Burri L., Kido Y., Kita K., Moore A.L., Kido Y., Kita K., Moore A.L., Keeling P.J. A Broad Distribution of the Alternative Oxidase in Microsporidian Parasites. *PLoS Pathog.* 2010; 6 (2): 1000761.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Тимофеев Сергей Александрович**, лаборант-исследователь лаборатории микробиологической защиты растений Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений

**Адрес:** 121552, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, д. 3, **тел.:** +7 (812) 470-43-84, **e-mail:** ts-bio@yandex.ru



## Владимир Алексеевич Солодкий

264

27 апреля отпраздновал свой 60-летний юбилей доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН Владимир Алексеевич Солодкий.

В 1987 г. Владимир Алексеевич с отличием окончил 2-й Московский государственный медицинский институт им. Н.И. Пирогова по специальности «лечебное дело», там же прошел обучение в клинической ординатуре по хирургии.

Работал врачом-хирургом, а впоследствии на руководящих должностях в учреждениях здравоохранения Оренбургской, Владимирской и Московской областей, заместителем Министра здравоохранения Правительства Московской области, заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, заместителем президента Российской академии медицинских наук по финансово-экономическим вопросам, заместителем руководителя Федерального агентства по высокотехнологичной помощи. С 2009 г. Владимир Алексеевич занимает должность директора Российского научного центра рентгенорадиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В.А. Солодкий имеет большой опыт клинической работы. Будучи хирургом-онкологом высшей квалификационной категории, он ежедневно оперирует больных и занимается консультативной работой.

Сфера его научных интересов разнообразна: это организация и управление здравоохранением, экономика здравоохранения, клиническая и экспериментальная онкология, онкохирургия.

В.А. Солодким опубликовано свыше 150 печатных научных работ, издан целый ряд основополагающих нормативных документов. Под его руководством защищено 9 докторских и 11 кандидатских диссертаций.

Большую административную, организационно-методическую, научную и клиническую работу Владимир Алексеевич сочетает с педагогической деятельностью, курирует работу профильных кафедр на базе Центра, где проходят тематическое усовершенствование онкологи, хирурги, рентгенологи, радиологи и маммологи из различных регионов и стран.

Пользуясь заслуженным авторитетом, Владимир Алексеевич активно участвует в общественной жизни. Он является председателем государственной аттестационной комиссии медицинского факультета Российского университета дружбы народов, заместителем председателя комиссии Российского союза промышленников и предпринимателей по индустрии здоровья, членом секции «Медицина и здравоохранение» Межведомственного совета по присуждению премий Правительства РФ в области науки и техники; имеет ряд государственных наград, а также знаки отличия, ордена и медали от общественных организаций и движений.

*Бюро Отделения медицинских наук РАН, редколлегия журнала «Вестник РАМН», друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют уважаемого Владимира Алексеевича с юбилеем и желают ему здоровья, счастья и долгих лет жизни, новых творческих успехов на благо медицинской науки, здравоохранения и образования.*



## Рэм Викторович Петров

265

22 марта отпраздновал свой 85-летний юбилей ведущий иммунолог России, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН и РАСХН Рэм Викторович Петров, с чьим именем связано развитие фундаментальных и прикладных технологий современной иммунологии, аллергологии и иммуногенетики (радиационная иммунология, генетический контроль иммунного ответа, молекулярно-клеточные механизмы его регуляции и клеточных взаимодействий), создание принципиально новых лекарственных препаратов — иммуномодуляторов, концепции и методологии оценки иммунного статуса, разработка принципов конструирования вакцин нового поколения с повышенными иммунизирующими свойствами.

Преподавание иммунологии как самостоятельной научной дисциплины Рэм Викторович начал в 1965 г. в Новосибирском университете. Приоритетные исследования Р.В. Петрова 1963–1973 гг. были посвящены проблемам иммуногенетики, клеточных взаимодействий, регуляции иммунного ответа. В совместной работе с другими учеными университета впервые были выявлены гены иммунного ответа, контролирующие продукцию антител к микробным антигенам, доказана реализация генетического контроля иммунного ответа на уровне клеточных популяций, изучены этапы иммуногенеза, на которых реализуется генетический контроль. Доказано, что межклеточные взаимодействия, регулирующие иммунный ответ, осуществляются не только в его латентную фазу, но и в продуктивный период антителогенеза.

Р.В. Петров стал автором открытия эффектов взаимодействия центральных элементов системы кроветворения — кроветворных стволовых клеток с центральными клетками системы иммунитета (лимфоцитами). Изучение механизмов этого феномена привело к выявлению клеточных форм иммунной системы, регулирующих кроветворение, с последующим открытием регуляторных пептидов костного мозга — миелопептидов. На основе костномозговых миелопептидов созданы такие лекарственные препараты, как Миелопид, бивален, серамил.

Миелопид уже вошел в клиническую и ветеринарную практику.

В 1970 г. Рэм Викторович организовал курс, а в 1974 — первую кафедру иммунологии в нашей стране на медико-биологическом факультете 2-го ММИ им. Н.И. Пирогова (ныне Российский национальный исследовательский медицинский университет). Им разработана программа преподавания иммунологии, создан первый в СССР и России учебник по иммунологии для вузов. По инициативе Р.В. Петрова в 1983 г. в Москве были организованы Институт иммунологии (ныне Государственный научный центр «Институт иммунологии Федерального медико-биологического агентства») и Всесоюзное научное общество иммунологов. На протяжении 10 лет (1980–1990) ведущие иммунологи СССР и России делились достижениями в области науки на ежемесячном Всесоюзном семинаре по актуальным проблемам иммунологии, организованном Р.В. Петровым. Обзорные работы участников семинара наиболее актуальных проблем иммунологии публиковались в специальных выпусках ВИНТИ в разделе «Иммунология» серии «Итоги науки и техники».

В 1974 г. Р.В. Петровым и соавт. были опубликованы первые работы о влиянии синтетических полимерных соединений на функции иммунокомпетентных клеток. Разработка этой проблемы привела к созданию первого в мире синтетического биодegradуемого полифункционального адьюванта — иммуномодулятора — и технологии конструирования при его использовании вакцин нового поколения с повышенными иммунизирующими свойствами (конъюгированные полимер-субъединичные вакцины). В 1997 г. по инициативе и под руководством Р.В. Петрова была создана целевая межведомственная научно-техническая программа «Вакцины нового поколения и диагностические системы будущего». Одной из первых вакцин нового поколения для массовой вакцинации населения, созданных в соавторстве с другими учеными института, стала тривалентная полимер-субъединичная гриппозная вакцина Гриппол, состоящая из



очищенных субъединичных эпитопов (гемагглютинин и нейраминидаза) актуальных штаммов вирусов гриппа А и В, конъюгированных с синтетическим иммуностимулятором — полиоксидонием. В рамках разработанной программы в Институте иммунологии был создан также ряд эффективных иммунодиагностикомов и иммуномодулирующих лечебных препаратов, разработаны технологии получения вакцин нового поколения к возбудителям наиболее социально значимых инфекций — брюшного тифа, дизентерии, туберкулеза, гепатитов, СПИДа и др.

В середине 70-х годов по инициативе и под руководством Р.В. Петрова были развернуты работы по оценке иммунного статуса человека, динамическому слежению за его состоянием у большого контингента взрослого и детского населения различных регионов, изучению влияния на него экологически неблагоприятных факторов. Созданная методология была внедрена в практическое здравоохранение, сформирована сеть региональных центров и лабораторий клинической иммунологии, накоплен массив данных по проблеме «иммунного статуса населения», создана иммунологическая карта страны.

В 1982 г. Рэм Викторович приступил к разработке подходов по созданию принципиально нового класса препаратов для специфической иммунотерапии аллергий — аллерготропинов на основе конъюгатов синтетического иммуностимулирующего полиэлектролита полиоксидония с высокоочищенными аллергенами или аллергоидами, выделенными из пыльцы растений — березы (аллерготропин берпол), тимофеевки (тимпол), полыни (полпол). Созданные препараты в настоящее время успешно проходят клинические испытания. Результаты показывают, что аллерготропины значительно повышают эффективность иммунотерапии.

Возглавляя секцию нанобиотехнологий Отделения нанотехнологий и информационных технологий РАН, Р.В. Петров уделяет большое внимание наноконструированию новых иммуногенов, антител, вакцин, лечебных препаратов; диагностике и детекции, а также другим актуальным стратегическим проблемам сложнейшей области науки.

Р.В. Петров внес значительный вклад не только в подготовку высококвалифицированных кадров, но и в преподавание и пропаганду иммунологии в России и СНГ. Им подготовлено более 80 докторов и кандидатов наук.

Результаты плодотворной деятельности академика Р.В. Петрова, его открытия и изобретения обобщены более чем в 400 научных работах, в том числе 16 монографиях, учебнике «Иммунология»; более 60 из них, включая 8

монографий, опубликованы за рубежом (в США, Англии, Франции, Японии и др.).

Являясь членом Союза писателей, Рэм Викторович большое внимание уделял популяризации иммунологии. Он автор многих научно-популярных и научно-художественных книг и статей, научно-популярных фильмов. Его книги «Сфинксы XX века» (1967, 1971), «Иммунология от Пастера до наших дней» (1968), «Беседы о новой иммунологии» (1976), «Я или не Я» (1983, 1987) и другие изданы на 15 языках мира.

Рэм Викторович Петров ведет огромную организаторскую, общественную и международную работу. Он член Правления Международного союза иммунологических обществ (IUIS; 1989), вице-председатель постоянного комитета ЮНЕСКО по молекулярной и клеточной биологии (1990), председатель Комитета по биоэтике при Комиссии РФ по делам ЮНЕСКО (1995). Ученый принимает активное участие в деятельности редколлегий ряда зарубежных и отечественных специализированных журналов. Вклад в развитие иммунологии и заслуги перед ней отмечены избранием Р.В. Петрова действительным членом Всемирной академии искусств и науки, Вашингтонской и Норвежской академий наук. Рэм Викторович имеет степень honoris causa доктора Бар-Иланского университета (Израиль), Мадридского политехнического университета, Воронежского государственного медицинского университета и Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина.

Р.В. Петров награжден золотой медалью им. И.И. Мечникова АН СССР (1987), золотой медалью Международного общества трансплантологов; в 1997 г. ему присуждена премия Правительства РФ, а в 2001 — Государственная премия РФ. В 2012 г. академик Р.В. Петров был удостоен Государственной премии в области науки и технологий «За выдающиеся достижения в научном и практическом развитии отечественной иммунологии».

Академик Р.В. Петров — Герой Социалистического Труда, награжден орденами Ленина, Октябрьской Революции, «За заслуги перед Отечеством» III степени, медалями «За трудовую доблесть», «За доблестный труд».

*Редколлегия журнала «Вестник РАМН», многочисленные ученики, друзья и коллеги сердечно поздравляют глубокоуважаемого Рэма Викторовича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, счастья, долгих лет активной жизни и новых творческих успехов на благо науки, здравоохранения и образования.*

# Памяти профессора Л.А. Яковлевой

21 августа 2014 г. ушла из жизни доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН, заслуженный деятель науки РФ, лауреат Государственной премии РФ по науке и технике Лелита Андреевна Яковлева.

Лелита Андреевна родилась 29 мая 1926 г. в Ленинграде в высокоинтеллигентной семье. Детство ее пришлось на драматический период жизни нашей страны: в 1938 г. после ряда арестов ее отец был сослан в Тобольск, приговорен к высшей мере наказания как «руководитель контрреволюционной группы повстанческого характера, ставившей задачей свержение Советской власти», но за отсутствием состава преступления реабилитирован. Эти события стали тяжелейшей моральной травмой для всей семьи.

В годы Великой Отечественной войны, будучи еще совсем девочкой, Лелита Андреевна вместе с героическим советским народом ковала победу, обеспечивая нашей армии надежный тыл. Созидательная деятельность стала основой всей жизни Лелиты Андреевны Яковлевой.

В 1948 г. молодая студентка с отличием окончила Ленинградский педиатрический институт и продолжила учебу в аспирантуре. Она готовила диссертацию в отделе патологической анатомии НИИ экспериментальной медицины АМН СССР (ИЭМ) под руководством академика Н.Н. Аничкова — основоположника учения об атеросклерозе и ретикулоэндотелиальной системе, разработавшего основы патогенеза наиболее важных заболеваний сердца и сосудов. После окончания аспирантуры и защиты кандидатской диссертации Л.А. Яковлева была направлена в Сухуми на медико-биологическую станцию АМН СССР, реорганизованную в Институт экспериментальной патологии и терапии, а в 1992 г. — в Институт медицинской приматологии РАМН. Вся дальнейшая творческая жизнь Лелиты Андреевны была связана с этим институтом.

Круг основных научных интересов Л.А. Яковлевой был связан с изучением радиобиологии, сравнительной патологии приматов, экспериментальной онкологии, онкоморфологии и онковирусологии. Приоритетные исследования в области острой и хронической лучевой болезни, воспроизведенной фракционным воздействием малых доз радиации, помогли выявить, что ее отдаленные последствия (повышенная восприимчивость к инфекции, неустойчивость кроветворения, угнетение репродуктивной функции) наблюдаются спустя многие годы.

Обнаруженная Л.А. Яковлевой сходная радиочувствительность обезьян и людей при действии малых доз ионизирующей радиации открыла перспективы для разработки методов профилактики и лечения лучевой болезни, что представлялось особенно важным в связи с развитием новой высокоэффективной отрасли народного хозяйства — космонавтики. Этот фундаментальный труд, выполненный более чем на 400 обезьянах, был обобщен в докторской диссертации «Сравнительно-патологические исследования лучевой болезни, роль инфекции в развитии ее осложнений и последствия острого лучевого поражения» (1964), а результаты опубликованы в монографии «Сравнительное исследование лучевой болезни и ее последствий» (1966).

Более 35 лет Л.А. Яковлева посвятила изучению злокачественных новообразований кроветворной системы (лимфом) и ассоциированных с ними вирусов. О широте ее научных взглядов, многогранности таланта, научном предвидении свидетельствует выдвинутая профессором гипотеза о вирусной природе опухолей кроветворной системы приматов.

Одним из важнейших направлений исследований Лелиты Андреевны, проводимых совместно с профессором Б.А. Лапиным и сотрудниками руководимой ею лабора-

тории экспериментальной онкологии, являлись вирусассоциированные опухоли кроветворной и лимфоидной ткани приматов.

В ходе многолетних (1967–1992) исследований была создана и изучена модель вирусассоциированной злокачественной лимфомы на обезьянах двух видов — павианов гамадрилах (*Papio hamadryas*) и бурых макаках (*Macaca arctoides*), что позволило установить ряд закономерностей действия опухолевых вирусов, которые стали частью современных представлений о вирусном канцерогенезе. У заболевших павианов гамадрилов в крови, кроветворных органах и клетках опухолей при электронно-микроскопическом исследовании были обнаружены ретровирусные частицы С-типа. Последние обнаруживались также в органах, сообщающихся с внешней средой (почках, легких, слюнных железах), что являлось одной из причин распространения вируса. С помощью метода полимеразной цепной реакции было показано, что ретровирус, присутствующий в опухолевых материалах павианов и макак и этиологически связанный со злокачественными лимфомами, является РНК-содержащим Т-лимфотропным ретровирусом (павианов гамадрилов STLV-1 rh или бурых макак STLV-ma), относящимся к семейству HTLV-1 человека. Молекулярно-генетически была обнаружена тесная связь ретровируса с опухолью, что подтверждалось моноклональной интеграцией провирусной ДНК в ДНК клеток лимфомы. Метод рестрикции и секвенирования провирусной ДНК по ряду генов помог установить, что ретровирус, присутствовавший у погибших в начале или конце эпизоотий от генерализованной лимфомы павианов, мог быть как минимум двух субтипов — Африканским и Азиатским.

В значительной степени по инициативе Л.А. Яковлевой в НИИЭПТ АМН СССР начались исследования по изучению роли вирусов в возникновении и распространении лимфом/лейкозов у человека в эксперименте на обезьянах: они проводились большой группой ученых различных направлений (клиницистов, патоморфологов, вирусологов, клеточных биологов, молекулярных биологов, электронных микроскопистов и др.) под непосредственным руководством Лелиты Андреевны, которая не только выполняла многие работы по вирусологии и иммунологии, но и лично находилась в боксе с клеточными культурами. Так, впервые в мире от обезьян были выведены лимфоидные суспензионные В- и Т-клеточные культуры, продуцирующие лимфотропные вирусы приматов.

Л.А. Яковлева активно внедряла новые научные направления в работу учреждения. Сотрудники института и ученики обожали Лелиту Андреевну: ее жизнерадостный оптимизм открывал перед ними ясность целей и необходимость их реализации. Целью работы этих исследователей было выделение онкогенных вирусов от больных злокачественной лимфомой обезьян. Многочисленные попытки выделить вирус в пермиссивных культурах клеток не увенчались успехом. Непосредственное культивирование клеток кроветворных тканей больных лимфомами обезьян и электронно-микроскопическое изучение полученных краткосрочных культур обнаружило частицы ретровируса типа С, но идентифицировать на тот период этот вирус не удавалось. Успех пришел позднее (после 1980 г.), когда от взрослых людей в Японии и регионах Карибского моря, страдающих Т-клеточной лейкемией, был выделен ретровирус тип С, позднее верифицированный как HTLV-1 и имеющий антигенное сходство с вирусом, выделяемым в культурах клеток крови, а также ультрацентрифугатах крови, мочи и других тканях больных обезьян. Ретровирус тип С, обнаруживаемый в тканях лимфоматозных обезьян, был назван STLV-1, а в

В-клеточных культурах клеток этих животных был выделен герпесоподобный вирус.

Специфика выделения вируса, его морфологическая структура, сходство с капсидным антигеном вируса Эпштейна–Барр — первым онкогенным инфекционным агентом человека, выделенным в 1964 г. от больного африканской лимфомой Беркитта человека, отличие ядерных антигенов двух вирусов, а также лишь 40% гомология их ДНК позволили установить биологическую уникальность выделенного от обезьян вируса и назвать его лимфотропным герпесвирусом павианов. Данный факт послужил основанием академику Б.А. Лапину и профессору Л.А. Яковлевой выдвинуть гипотезу о существовании семейства лимфотропных вирусов приматов, объединенных в одну ВЭБ-подобную группу. Несколько позже эта гипотеза получила подтверждение: под руководством Лелиты Андреевны аналогичные вирусы были выделены и от других видов обезьян. Так, от макака бурых был получен ряд суспензионных лимфоидных линий, в клетках которых реплицировался похожий лимфотропный вирус, названный ГВМА, от зеленых мартышек — ГВЗМ. Было доказано горизонтальное распространение лимфотропных герпесвирусов путем выделения биологически активного вируса из смывов зева обезьян как больных злокачественной лимфомой, так и обезьян, находящихся в стадии клинической ремиссии.

Что касается ретровируса типа С, обнаруживаемого в органах и тканях больных лимфомой обезьян, то иммунологически было показано, что он не имел аналогов среди известных на то время ретровирусов млекопитающих (кошек, мышей, крупного рогатого скота и др.). По месту первичного обнаружения этот инфекционный агент был условно назван «плазмменным» и позже идентифицирован как STLV-1 из семейства HTLV-1. Результаты молекулярно-генетических исследований подтвердили принадлежность обоих вирусов к одному семейству. Позже, при культивировании Т-клеток злокачественной лимфомы павиана гамадрила удалось вывести Т-клеточную постоянную культуру, продуцирующую указанный вирус. Проведенное молекулярно-генетическое исследование ретровирусов, в том числе ключевых участков его генома (*env* и *tax* генов), присутствующих в клетках лимфом павианов и макака в виде провирусной ДНК (с помощью ПЦР-амплификации с последующим секвенированием и компьютерным анализом), позволило установить существенную гомологию структуры изучаемых ретровирусов обезьян с прототипным ретровирусом человека HTLV-1.

Работы Л.А. Яковлевой в области изучения лимфо-пролиферативных заболеваний приматов внесли существенный вклад в решение вопросов классификации дифференциальной диагностики этих новообразований. На основе современных представлений о В- и Т-клеточном лимфопоэзе и морфоиммунологических сопоставлений среди злокачественных лимфом приматов были выделены опухоли из клеток-предшественников и опухоли из зрелых клеток с фенотипом иммунокомпетентных, антигензависимых лимфоидных элементов. Сравнительный анализ морфологических особенностей злокачественных лимфом человека и обезьян, проведенный совместно с видным немецким онкоморфологом профессором К. Леннертом — автором Кильской классификации злокачественных лимфом человека, выявил высокую степень морфологического и иммунофенотипического сходства лимфом человека и лабораторных приматов. Было установлено, что, как и у человека, у лабораторных приматов преобладают лимфомы, возникающие из иммунокомпетентных клеток, среди которых, согласно Кильской классификации, было выделено 14 основных цитологических вариантов опухолей высокой и низкой степени злокачественности (8 вариантов Т- и 6 вариантов В-клеточных).

Работы по открытию и описанию нового онкогенного вируса герпеса приматов были удостоены премии

имени В.Д. Тимакова (1984), а весь цикл трудов по экспериментальному изучению злокачественных заболеваний кроветворной системы и созданию модели на обезьянах для изучения ее особенностей и последствий — Государственной премии РФ (2002).

Л.А. Яковлева активно сотрудничала с зарубежными учеными: принимала участие в организации и проведении международных конференций, съездов, конгрессов, часто проводимых на базе НИИЭПит АМН СССР; многократно выступала с докладами на европейских и американских конференциях; представляла блестящие научные материалы, которые вызвали живой отклик у коллег из Национального института здоровья (США), Института по изучению рака (ГДР), Института сывороток и прививочных вакцин (Чехия), Национального института рака (Словакия), Венгрии, Польши и др. Благодаря активному научному сотрудничеству в рамках СЭВ Л.А. Яковлева заняла почетное место в ряду наиболее талантливых ученых этих стран. Ее работы по онкоморфологии, опубликованные совместно с видным немецким ученым К. Леннертом, по онковирусологии — совместно с известным немецким ученым Ф. Дейнхардтом, были высоко оценены и получили международное признание.

За годы бескорыстного служения науке по самым актуальным направлениям — от радиобиологии (изучение лучевой болезни) до онковирусологии (создание на обезьянах модели злокачественной лимфомы человека) — Лелита Андреевна стала признанным ученым не только в нашей стране, но и за рубежом: свыше 300 научных публикаций, в том числе 6 монографий, переведенных на английский и немецкий языки, обеспечили ей триумф в медико-биологической науке.

Л.А. Яковлева прививала молодым сотрудникам, своим ученикам любовь к науке, развивала в них научную любознательность, учила самостоятельно мыслить и ответственно работать, поэтому ее ученики — нынешние кандидаты, доктора наук и профессора — высоко держат знамя отечественной научной школы не только в нашей стране, но и за рубежом.

Отличительными особенностями Лелиты Андреевны были ее высочайший профессионализм, исключительное трудолюбие, широта кругозора, принципиальность, научная педантичность, высокая ответственность за результаты своей деятельности и стремление передать свои знания и опыт молодежи. Под ее руководством успешно защищены 8 кандидатских и 2 докторские диссертации. Результатом созидательной деятельности Л.А. Яковлевой является также соучастие в реконструкциях НИИЭПит АМН СССР в Абхазии, становление ГУ «НИИ МП» и превращение его в известный теперь уже всему миру единственный в России приматологический центр.

Заслуги Л.А. Яковлевой в науке были отмечены правительственными наградами — медалью Ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени и др.

Несмотря на возраст, Лелита Андреевна продолжала по мере возможностей вникать в проблемы обращавшихся за помощью людей. В ней было много молодого задора. Она служила замечательным примером честности, глубокой порядочности, доброты и любви к людям.

Коллективы ФГБУ «НИИ МП», НИИЭПит Абхазской АН, коллеги, ученые многих зарубежных стран, ученики, друзья и родные навсегда сохранят в своих сердцах память о достойнейшем и ярком человеке — Лелите Андреевне Яковлевой.

Коллектив сотрудников ГУ «НИИ МП»