

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

---

# ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

---

*Ежемесячный научно-теоретический журнал  
Основан в 1946 г.*

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. ХАИТОВ, Е.И. ЧАЗОВ, В.П. ЧЕХОНИН, В.И. ЧИССОВ, Е.В. ШЛЯХТО

**НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР:** Д.А. НАПАЛКОВ

---

# 1/2015

---

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 monthly*  
*Founded in 1946*

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:** D.A. NAPALCOV

---

# 1/2015

---

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

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПАТОФИЗИОЛОГИИ

- В.А. Козлов, С.П. Сапожников, А.И. Шептухина, А.В. Голеньков** Сравнительный анализ различных моделей амилоидоза
- Л.И. Колесникова, О.А. Вантеева, Н.А. Курашова, Б.Г. Дашиев** Глутатионзависимые ферменты и глутатион при бесплодии мужчин с различной массой тела
- А.Б. Салмина, Ю.К. Комлева, Н.В. Кувачева, О.Л. Лопатина, Е.А. Пожиленкова, Я.В. Горина, Э.Д. Гасымлы, Ю.А. Панина, А.В. Моргуи, Н.А. Малиновская** Воспаление и старение мозга
- В.Н. Сахаров, П.Ф. Литвицкий** Роль различных фенотипов макрофагов в развитии заболеваний человека

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПЕДИАТРИИ

- О.В. Кожевникова, Л.С. Намазова-Баранова, Э.А. Абашидзе, В.В. Алтуни, А.С. Балабанов, И.В. Широкова, И.И. Кондрахина, Т.А. Полунина, Т.В. Маргиева** Синдром обструктивного апноэ сна у детей как риск развития сердечно-сосудистой патологии
- С.Г. Макарова, Л.С. Намазова-Баранова, Е.А. Вишнёва, А.К. Геворкян, А.А. Алексеева, М.И. Петровская** Актуальные вопросы диагностики пищевой аллергии в педиатрической практике
- Н.А. Маянский, А.Н. Маянский, Т.В. Куличенко** Ротавирусная инфекция: эпидемиология, патология, вакцинопрофилактика
- Д.А. Морозов, Е.С. Пименова, В.К. Таточенко, М.Д. Бакрадзе, Д.Д. Гадлия, О.Л. Морозова, А.Г. Талалаев** Хирургическое лечение редкого сочетания мальротации кишечника со вторичной лимфангиэктазией

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ

- А.А. Тотolian** Прошлое и настоящее *Streptococcus pyogenes*: некоторые факторы патогенности и их генетическое детерминирование
- Г.Г. Онищенко, И.А. Дятлов, Э.А. Светоч, Н.В. Воложанцев, В.А. Баннов, Н.Н. Карцев, В.Н. Борзенков, Н.К. Фурсова, И.Г. Шемякин, А.Г. Богун, А.А. Кисличкина, А.В. Попова, В.П. Мякина, М.Г. Теймуразов, О.В. Полосенко, Л.А. Кафтырева, М.А. Макарова, З.Н. Матвеева, Т.А. Гречанинова, Н.С. Григорьева, Е.В. Кича, Г.В. Забалуева, Т.Б. Кутасова, Ю.Н. Коржаев, Н.С. Башкетова, О.Н. Бушманова, А.В. Сталевская, И.Г. Чхинджерия, А.Б. Жебрун** Молекулярно-генетическая характеристика шига-токсин-продуцирующих *Escherichia coli*, выделенных при вспышке пищевой инфекции в Санкт-Петербурге в 2013 году

## НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

- Л.С. Намазова-Баранова, Р.Е. Суворов, И.В. Смирнов, А.И. Молочников, Е.В. Антонова, Е.А. Вишнёва, В.И. Смирнов** Управление рисками пациента на основе технологий удаленного мониторинга здоровья: состояние области и перспективы
- Ю.С. Винник, С.С. Дунаевская, Д.А. Антюфриева** Диагностическая ценность интегральных шкал в оценке степени тяжести острого панкреатита и состояния больного

## PATHOPHYSIOLOGY: CURRENT ISSUES

- V.A. Kozlov, S.P. Sapozhnikov, A.I. Sheptuhina, A.V. Golenkov** The Comparative Analysis of Various Amyloid Models
- L.I. Kolesnikova, O.A. Vanteeva, N.A. Kurashova, B.G. Dashiev** Glutathione-Dependent Enzymes and Glutathione in Infertility of Men with Different Body Mass
- A.B. Salmina, Yu.K. Komleva, N.V. Kuvacheva, O.L. Lopatina, E.A. Pozhilenkova, Ya.V. Gorina, E.L. Gasymlu, Yu.A. Panina, A.V. Morgun, N.A. Malinovskaya** Inflammation and Brain Aging
- V.N. Sakharov, P.F. Litvitsky** Roles of Different Macrophage Phenotypes in the Pathogenesis of Some Human Diseases

## PEDIATRICS: CURRENT ISSUES

- O.V. Kozhevnikova, L.S. Namazova-Baranova, E.A. Abashidze, V.V. Altunin, A.S. Balabanov, I.V. Shirokova, I.I. Kondrahina, T.A. Polunina, T.V. Margieva** Obstructive Sleep Apnea Syndrome in Children as a Risk of Cardiovascular Pathology Development
- S.G. Makarova, L.S. Namazova-Baranova, E.A. Vishneva, A.K. Gevorkyan, A.A. Alekseeva, M.I. Petrovskaya** Topical Issues of Food Allergy Diagnosis in Pediatric Practice
- N.A. Mayanskiy, A.N. Mayanskiy, T.V. Kulichenko** Rotavirus Infection: Epidemiology, Pathology, Vaccination
- D.A. Morozov, E.S. Pimenova, V.K. Tatochenko, M.D. Bakradze, D.D. Gadliya, O.L. Morozova, A.G. Talalaev** Surgical Treatment of Rare Combination of Intestinal Malrotation with Secondary Lymphangiectasia

## MICROBIOLOGY: CURRENT ISSUES

- A.A. Totolian** Past and Present of *Streptococcus pyogenes*: Some Pathogenic Factors and Their Genetic Determination
- G.G. Onishchenko, I.A. Dyatlov, E.A. Svetoch, N.V. Volozhantsev, V.A. Bannov, N.N. Kartsev, V.N. Borzenkov, N.K. Fursova, I.G. Shemyakin, A.G. Bogun, A.A. Kislichkina, A.V. Popova, V.P. Myakinina, M.G. Teimurazov, O.V. Polosenko, L.A. Kafytyreva, M.A. Makarova, Z.N. Matveeva, T.A. Grechaninova, N.S. Grigor'eva, E.V. Kicha, G.V. Zabalueva, T.B. Kutsova, Yu.N. Korzhaev, N.S. Bashketova, O.N. Bushmanova, A.V. Stalevskaya, I.G. Tchineria, F.B. Zhebrun** Molecular-genetic Characterization of Shiga-Toxin Producing *Escherichia Coli* Isolated During a Food-Borne Outbreak in St. Petersburg in 2013

## SCIENTIFIC REPORTS

- L.S. Namazova-Baranova, R.E. Suvorov, I.V. Smirnov, A.I. Molodchenkov, E.V. Antonova, E.A. Vishneva, V.I. Smirnov** Risk Management of a Patient on the Basis of Remote Health Monitoring: Current Situation and Prospects
- Y.S. Vinnik, S.S. Dunaevskaya, D.A. Antufrieva** Diagnostic Value of Integral Scoring Systems in Assessing the Severity of Acute Pancreatitis and Patient's Condition

- Г.М. Волгарева* Рак предстательной железы: возможная роль папилломавирусов в его возникновении **95** *G.M. Volgareva* Prostate Cancer: Papillomaviruses as a Possible Cause
- Р.В. Кубасов, Ю.Е. Барачевский, А.М. Иванов* Гипофизарно-надпочечниковая и тиреоидная секреция у сотрудников МВД при различных уровнях профессиональной напряженности **101** *R.V. Koubassov, Yu.E. Barachevsky, A.M. Ivanov* Hypophysis-Adrenal and Thyroid Secretion at Law Order Staff Depending on Professional Loading
- М.Т. Луценко, И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина, А.Г. Мироненко* Механизмы формирования гипоксии в период беременности и нарушение кровоснабжения плода при цитомегаловирусной инфекции **106** *M.T. Lutsenko, I.A. Andrievskaya, N.A. Ishutina, A.G. Mironenko* Mechanisms of Hypoxia Development During Pregnancy and the Disorder of Fetus Blood Supply at Cytomegalovirus Infection
- А.В. Новоселецкая, Н.М. Киселёва, О.В. Белова, И.В. Зими-на, А.Н. Иноземцев, В.Я. Арион, В.И. Сергиенко* Влияние тимических пептидов на анальгезию, вызванную острой и подострой иммобилизацией **113** *A.V. Novoseletskaya, N.M. Kiseleva, O.V. Belova, I.V. Zimina, A.N. Inozemtsev, V.Ya. Arion, V.I. Sergienko* The Influence of the Thymus Peptides on Analgesia Caused by Acute and Chronic Immobilization
- О.Ю. Польшаная, А.И. Левашова, В.С. Морозова, С.Н. Петроченко, М.А. Мягкова, И.А. Мосейкин* Уровни переносимости боли и факторы гуморального иммунитета при дорсалгии **118** *O.Yu. Polyvyanaya, A.I. Levashova, V.S. Morozova, S.N. Petrochenko, M.A. Myagkova, I.A. Moseykin* Dynamics of Pain Tolerance Thresholds and Humoral Immunity Factors at Dorsalgia

#### ЮБИЛЕИ, ПОЗДРАВЛЕНИЯ

*Вадим Валентинович Покровский*

#### ANNIVERSARIES, CONGRATULATIONS

**125** *Vadim Valentinovich Pokrovskii*

В.А. Козлов, С.П. Сапожников, А.И. Шептухина, А.В. Голенков

Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, Чебоксары, Российская Федерация

## Сравнительный анализ различных моделей амилоидоза

*Рассмотрены естественные и экспериментальные модели амилоидоза в контексте существующих теорий и известных механизмов амилоидогенеза. Имеющиеся клинические и экспериментальные наблюдения свидетельствуют, что мнение о фатальной неизлечимости амилоидоза неверно. Показано, что существует значительное количество экспериментальных, достаточно легко воспроизводимых моделей амилоидоза, которые могут быть использованы для отработки методов лечения этой патологии. Предложена классификация моделей амилоидоза: естественные (животные модели с генуинным амилоидозом), клеточные клоны, артифициальные (инфекционные, белковые, прочие). На основании анализа существующих моделей амилоидоза сделан вывод о том, что ни одна из принятых в научном сообществе теорий образования амилоида не объединяет и не объясняет все известные факты о механизма амилоидогенеза. Предполагается, что существует группа белков, структура  $\beta$ -листа которых потенциально способна к образованию амилоидной конформации, и что  $\beta$ -листы таких белков имеют близкий аминокислотный состав. Условие образования амилоидной конформации — это попадание такого белка в достаточном количестве в несвойственное ему место, где ионная сила тканевой жидкости такова, что способствует образованию амилоидной конформации. По-видимому, неблагоприятная величина ионной силы среды окружения амилоидного белка обусловлена влиянием полисахаридов, тубулиновых белков и ионизированного кремния.*

**Ключевые слова:** амилоид, модели амилоидоза — естественные (животные, клеточные), артифициальные.  
(Вестник РАМН. 2015; 1: 5–11)

5

### Введение

Проблема амилоидоза в связи со старением человеческой популяции и увеличением числа больных, имеющих хронические воспалительные заболевания, а также числа больных с различными наследственными формами амилоидоза становится все более актуальной. Так, некоторые авторы приводят данные о том, что амилоидоз сердца обнаруживают у 2,3% умерших в возрасте до 50 лет, в возрастной группе 50–70 лет его выявляют у 30%, в группе 70–90 лет — уже у 41%, а у лиц, умерших в возрасте старше 90 лет, амилоидоз обнаруживали в 71–90% случаев [1]. Более того, в настоящее время доказано, что патогенез ряда заболеваний, которые ранее никак не связывали с амилоидогенезом, также реализуется через локальное отложение этого белка в тканях. Например, установлено, что причина первичной открытоугольной формы глау-

комы — это отложение  $\beta$ -амилоида и  $\tau$ -белка не только в ганглионарных волокнах сетчатки и аксонах зрительного нерва, но и в проводящих путях зрительного анализатора вплоть до коры головного мозга [2]. С накоплением амилоидного белка связан патогенез таких заболеваний, как боковой амиотрофический склероз, миозит с включениями [3, 4], деменция с тельцами Леви [5], синдромы Альцгеймера [6] и Дауна [7] и еще около 30 различных нозологических форм [8]. В том числе установлено, что панкреатический гормон амилин (антагонист инсулина) при образовании в избыточных количествах переходит в состояние амилоидного белка и откладывается в виде амилоидных депозитов в инсулярных островках, участвуя таким образом в патогенезе сахарного диабета 2-го типа [9]. Исходя из вышеизложенного, медицинская проблема амилоидогенеза выходит далеко за границы учета только известных форм наследственного и вторичного амилоидоза.

V.A. Kozlov, S.P. Sapozhnikov, A.I. Sheptuhina, A.V. Golenkov

I.N. Ul'yanov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

## The Comparative Analysis of Various Amyloid Models

*Considered natural and experimental amyloidosis models in the existing theories context and known amyloidogenesis mechanisms. Available clinical and experimental observations indicate that the opinion of a fatal incurable amyloidosis wrong. It is shown that there is a significant amount of experimental easily replicable amyloidosis models, which may be used for practicing the treatment methods of this pathology. We offer an amyloidosis models classification: natural (animal models with generic amyloidosis), cell clones, artificial (infectious, protein, etc.). Based on the analysis of amyloidosis existing models concluded — none of the accepted in the scientific the theories community for amyloid building does not combine or explains all known facts about the amyloidogenesis mechanisms. It is assumed that there is a proteins group, the beta-sheet structure, which are potentially capable of amyloid conformation building. It is assumed that beta-sheets of these proteins have similar amino acid composition. The condition for the amyloid building conformation is getting too much protein in sufficient quantities in an uncharacteristic place where the ionic strength of the tissue fluid is such that it promotes the amyloid building conformation. It is assumed that an unfortunate amount of ionic strength environment amyloid protein is provided by polysaccharides, tubulins proteins and ionized silicon.*

**Key words:** amyloid, amyloidosis models — natural (animal, cellular), artificial.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 5–11)

Амилоидоз необоснованно считают неизлечимой болезнью, в связи с чем, вероятно, отсутствуют широкомасштабные разработки эффективных средств и методов терапии этой патологии. Как утверждает Г.Е. Гендлин, впервые примененный еще в 1927 г. М. Grossman способ лечения вторичного амилоидоза путем потребления в пищу сырой печени с некоторым успехом используют до настоящего времени [10]. Между тем получен ряд свидетельств, доказывающих возможность эффективного лечения и профилактики отдельных форм амилоидоза. Например, положительный эффект применения сочетания сульфатной минеральной воды с янтарной кислотой получен при экспериментальном амилоидозе у хомяков [11], милдроната в сочетании с ацизолом — у сирийских хомяков [12] и крыс [13], L-карнитина — на культуре клеток гиппокампа крыс [14]. Существуют наблюдения, частично подтвержденные экспериментально, что некоторые ингредиенты красного вина, в частности ресвератрол (регулятор системы сиртуинов), при длительном потреблении предотвращают развитие болезни Альцгеймера или несколько уменьшают степень выраженности симптомов при клинически выраженной патологии [15, 16]. Ранее мы уже сообщали, что особенности аминокислотного спектра амилоида позволяют ему подвергаться в т.ч. и парабиохимической трансформации. Интенсивность таких процессов с участием полифенолов красного вина теоретически может усиливаться в присутствии ацетальдегида [17].

Ситуация с разработкой методов лечения амилоидоза весьма неопределенная. Патология хорошо поддается экспериментальному моделированию, а соответственно, возможно проведение быстрого эффективного скрининга известных лекарственных средств с антиинфекционным, противовоспалительным или иммуномодулирующим фармакологическим потенциалом. Тем не менее возникает вопрос, насколько имеющиеся модели адекватны. Обзору экспериментальных моделей амилоидоза посвящена данная статья.

### Генетические аспекты амилоидоза

Амилоидоз — белковая дистрофия, запускаемая через образование белка острой фазы воспаления, получившего название «амилоидный сывороточный белок А» (APP $\alpha$ ). Источником этого белка служит печень. APP $\alpha$  представляет собой N-концевую часть своего сывороточного предшественника с молекулярной массой 90 000 Da. Индуцированное образование предшественника амилоидного белка обусловлено деятельностью следующих генов, локализованных на хромосоме 11 [18]:

- 11p151 / *SAA1* (сывороточный амилоидный белок A1) — реактивный вторичный амилоидоз;
- 11p151 / *SAA2* (сывороточный амилоидный белок A2) — реактивный вторичный амилоидоз;
- 11p151 / *SAA3* (сывороточный амилоидный белок A3) — возможно, псевдоген;
- 11p151 / *SAA4* (сывороточный амилоидный белок A4) — конститутивный, реактивный вторичный амилоидоз;
- 00.0 / *SAA5* сывороточный амилоидный белок A5.

Эта информация интересна тем, что локус гена в хромосоме 11 одинаковый, тогда как белки и процесс поражения разные. Возможно, различия аминокислотного состава амилоидных белков — результат альтернативного сплайсинга, что также предполагают некоторые авторы [19]. Ген предшественника  $\beta$ -амилоида *APP* локализован

на длинном плече хромосомы 21 (21q211) [20, 21], содержит не менее 19 экзонов и может давать до 10 изоформ APP $\alpha$  с различной длиной молекул. Дупликация этого гена (увеличение дозы гена) приводит к развитию амилоидоза у больных синдромом Дауна.

Наследственный амилоидоз у людей связан с мутацией гена *TTR*, расположенного на длинном плече хромосомы 18 (локус 18q12.1) [22]. Дальнейший патологический протеолиз этого белка происходит при участии  $\alpha$ - и  $\beta$ -секретаз и  $\gamma$ -протеазы, выделяющих амилоидный белок (A $\beta$ -фрагмент) из APP $\alpha$  по -С-С- связям [23]. Но для завершения образования амилоида, по-видимому, необходим еще один фактор. При болезни Альцгеймера, например, этот фактор был идентифицирован как  $\tau$ -белок нейронов, физиологической функцией которого является скрепление микротрубочек с помощью фосфатных групп [24]. Необходимость присутствия белка цитоскелета для формирования амилоида можно подтвердить тем, что регуляция процессов возникновения и поддержания прионовой структуры происходит как под действием шаперонов и убиквитинового системы [25], так и структур цитоскелета [26, 27].

Семейно-наследственные формы болезни Альцгеймера обусловлены мутациями в генах хромосом 14 или 19 [28].

### Амилоидные белки

К настоящему времени установлено, что предшественниками амилоида могут быть разные белки (табл. 1), которые либо имеют участки идентичной (или очень схожей) аминокислотной последовательности, выделяющейся в процессе протеолиза и преобразующейся в амилоид, либо сам амилоид — это не столько белок, сколько способ его укладки [29].

### Естественные (спонтанные) модели амилоидоза

Наиболее распространенная естественная модель амилоидоза — это амилоидоз шарпеев, возникающий вследствие наследственной лихорадки, передающейся по аутосомно-рецессивному типу [30, 31]. Лихорадка шарпеев дебютирует под действием различных инфекционных, травматических, психологических причин и вызывает образование амилоидного белка в печени. Могут быть поражены как молодые, так и старые собаки. Механизм запуска амилоидогенеза обусловлен наследственно высоким содержанием интерлейкина 1 $\beta$ . Непосредственный генетический дефект, приводящий к развитию наследственной лихорадки шарпеев, заключается в наличии у этой генетической линии собак потенциального модифицирующего локуса на хромосоме 13 [32].

Помимо шарпеев, амилоидоз иногда встречается у биглей [33]. Спонтанный амилоидоз, описанный у обезьян, представляет интерес тем, что при сходстве этой патологии у павианов, гамадрилов и макак по характеру отложений белка в органах и тканях, его тинкториальные свойства и особенности электронно-микроскопической структуры имеют различия в органоспецифичности поражения: у павианов преобладает амилоидоз почек, у макак — амилоидоз печени [34]. У обезьян рода *Cynomolgus* замена всего по одному аминокислотному кодону в генах, ответственных за синтез амилоида А и амилоида В, сопровождается развитием патологии, аналогичной синдрому Альцгеймера у человека [35].

Таблица 1. Типы амилоида и соответствующие формы амилоидоза [10]

| Типы амилоида                             | Обозначение  | Белок-предшественник                              | Вид амилоидоза   |
|---|--------------|---|--|
| Амилоид из легких цепей иммуноглобулинов  | AL           | Моноклональные легкие цепи $\kappa$ или $\lambda$ | Идиопатический генерализованный, при миеломе, виды локального  |
| Амилоид А                                 | AA           | Сывороточный белок AAS                            | Вторичный, периодическая болезнь, варианты идиопатического     |
| Амилоид при семейном амилоидозе           | AFB          | Гомологичный преальбумин                          | Португальский и другие типы семейных                           |
| Амилоид эндокринного происхождения        | AE, AEL, AEP | Кальцитонин, инсулин, глюкагон                    | Опухоли APUD-системы, выделяющие гормоны или псевдогормоны     |
| Амилоид при старческом амилоидозе         | AS, ASc, ASb | Неизвестно  | Старческий амилоидоз, старческая деменция, болезнь Альцгеймера |
| Амилоид у больных, находящихся на диализе | AH           | $\beta_2$ -микроглобулин                          | Амилоидоз больных, длительно находящихся на диализе            |
| Амилоид К                                 | AK           | Кератин   | Кожный: пятна, папулы, лихенификация                           |
| Амилоид при локальном амилоидозе          | AL           | Неизвестно  | Локальный амилоидоз кожи                                       |

Модель наследственной формы болезни Альцгеймера представлена в линии трансгенных мышей Tg (APP<sup>SwFlon</sup>, PSEN1<sup>M146L</sup>\*L286V) 6799Vas/J — код 5xFAD. У этих грызунов обнаружена тройная мутация гена, кодирующего APP белок, и двойная мутация гена пресенилина. У мышей этой линии обнаружен белок Abeta42 и быстрое формирование амилоидоза головного мозга [36].

У абиссинских кошек спонтанный системный наследственный амилоидоз протекает в виде нефротической формы, обусловленной отложением амилоида А [37, 38] в виде депозитов в клубочках [39]. Из приведенных данных следует, что у животных семейно-наследственный амилоидоз часто имеет органоспецифичную локализацию и редко протекает как системная патология.

### Клеточные клоны, продуцирующие амилоид

В настоящее время существует ряд клеточных клонов-продуцентов амилоида: нейрональные клетки крыс [40], человека [41], обезьян [42], гладкомышечные клетки из аорты [43]. Теоретически эти модели могут быть использованы для апробации потенциальных лекарственных средств, блокирующих синтез белков-предшественников амилоида. Однако исследовать влияние на уже сформировавшийся амилоид на клеточных культурах, очевидно, не получится, поскольку в культуре нет естественного клеточного окружения в виде соединительнотканной стромы и клеток других видов, типичных для ткани-предшественницы клеточной культуры. Кроме того, в культуре клеток трудно воссоздать естественное ионное окружение, создающее ионную силу среды. По этой причине клеточные модели не представляют большой ценности.

### Артифициальные модели амилоидоза

Экспериментальные модели амилоидоза на животных представлены в табл. 2. По сути, все эти модели могут быть разделены на три группы: инфекционные, белковые и прочие. Очевидно, что общее свойство инфекционных моделей — это способность возбудителя амилоидогена вызывать выраженное интенсивное воспаление со значительной интоксикацией и индуцированием синтеза большого количества различных белков, в т.ч. иммуноглобулинов. Последние относят к предшественникам амилоида (см. табл. 1). Также очевидно, что эти модели неудобны и опасны как для экспериментатора, так и пер-

сонала вивария, поскольку предполагают использование высокопатогенных возбудителей, которые могут вызвать и инфицирование персонала, и преждевременную гибель экспериментальных животных.

Белковые модели хорошо воспроизводимы, в них используют белки различного происхождения и часто различного химического строения. Например, казеин (видимо, подвергающийся в процессе приготовления частичному щелочному протеолизу), различные альбумины. Иммунологическая дистанция у этих белков колеблется от 0 до 10 [61], и по этой причине они могут вызывать иммунный ответ. Приведенные сведения подтверждают мнение, что амилоид может быть образован разными белками.

Значительный интерес представляют модели, в которых не применяют белки или инфицирование. Это обусловлено тем, что образование амилоида при использовании, по крайней мере, только кремниевой кислоты происходит очень быстро — в течение одного часа [45]. Данное обстоятельство исключает необходимость развития хронического воспаления как механизма запуска амилоидогенных белков. Поскольку очевидно, что в течение одного часа в ответ на введение кремниевой кислоты никакие амилоидные белки в достаточном количестве образоваться не могут, то, следовательно, белки, способные к образованию амилоидной структуры, в организме присутствуют постоянно и для их перехода в амилоидную конформацию достаточно изменения ионной силы окружающей белок среды.

### Обсуждение существующих теорий амилоидогенеза

Поскольку в настоящее время доказана возможность многих белков образовывать амилоид, высказано предположение, что последний — это не столько конкретный белок, сколько вариант укладки белка, способного к образованию амилоидной конформации [62]. С точки зрения антропного принципа, это дисфолдинг (патологическая укладка белка), заключающийся в формировании не просто структуры особого  $\beta$ -листа, а способного путем контакта с другой белковой молекулой воспроизводить свою структуру из аналогичных белковых молекул либо потенциально способных к формированию такой структуры. Именно поэтому амилоидные и, вероятно, прионовые белки можно рассматривать как белки, выполняющие функцию шаперонов по отношению к структурно родственными белкам. Также существует мнение, что прионовая и амилоидная структура укладки — эволюционно древние способы укладки белка, препятствующие его

спонтанному протеолизу в водной среде. У современных организмов образование амилоидных белков, как предполагают, служит реакцией на стресс [30]. С учетом приведенного выше мнения Ю.О. Чернова (2010) и ряда других авторов [62] об эволюции белков максимальный интерес представляет модель амилоидоза, индуцируемая введением кремниевой кислоты, поскольку это вещество на нашей планете неизбежно присутствует в воде, и как обязательный компонент среды должно участвовать в процессах абиогенеза. Между тем ни в одной экспериментальной попытке реализации абиогенных механизмов получения сложных органических молекул кремниевая кислота как модификатор реакций не была использована. В то же время, согласно теории Лешке–Леттерера, амилоидоз рассматривают как аутоиммунный процесс, тогда как кремниевая кислота, как это следует из данных С.П. Сапожникова и соавт., — модулятор аутоиммунных реакций [63].

Под механизм конформационной конверсии в настоящее время понимают нуклеированную полимеризацию, при которой происходит включение белка-мономера (возможно, затравки) в волокна амилоидного белка, что сопровождается изменением его конформации [64].

В пользу этой идеи свидетельствует результат эксперимента, в котором удалось осуществить инфицирование чистым белком, полимеризованным в амилоидную форму, другого белка в пробирке [65, 66]. Данный эксперимент также демонстрирует, что амилоидные белки ведут себя аналогично шаперонам, преобразуя «неправильную» укладку белка в «правильную» в данных средовых условиях.

В настоящее время существуют три основные теории патогенеза амилоидоза.

1. Теория локального клеточного генеза G. Teilmann (1954), объясняющая синтез ретикулоэндотелиальной клеткой только фибриллярных предшественников амилоида. Автор выделил две фазы образования амилоида: предамилоидную и собственно амилоидную [67]. Тем не менее теория интрацеллюлярного образования фибрилл амилоида ретикулоэндотелиальными клетками не объясняет ряда фактов: например, практически мгновенное образование амилоидных белков в ответ на внутривенное введение кремниевой кислоты.

2. Иммунологическая теория Лешке–Леттерера [68, 69], трактующая образование амилоида как результат реакции антиген–антитело. В качестве антигена в этой теории рассматривают продукт распада тканей либо чу-

8

Таблица 2. Артифициальные модели амилоидоза

| Объект                     | Амилоидоген                                      | Способ введения   | Кратность введения | Форма амилоидоза | Ссылка   |
|----------------------------|--|---|--------------------|------------------|----------|
| <i>Инфекционные модели</i> |  |   |                    |                  |          |
| Кролики                    | <i>Staphylococcus aureus</i>                     | Подкожно, культуру вводят в возрастающих количествах от 1 до 20 мл                            | 3–6 раз            | Системный        | [44]     |
|                            |  | Внутривенно   | Однократно         | Системный        | [45]     |
| Лабораторные животные      | <i>Mycobacterium butyricum</i>                   | Инфицирование   | –                  | Системный        | [46]     |
| Сирийские хомяки           | <i>Leishmania donovani</i>                       | Инфицирование   | –                  | Печеночная       | [47]     |
| <i>Белковые модели</i>     |  |   |                    |                  |          |
| Белые мыши, кролики        | Казеинат натрия                                  | Ежедневно подкожно или внутривенно 1 мл 5% раствора в 0,05 М NaOH                             | 15 дней            | Системный        | [48, 49] |
| Белые мыши                 | Нативный яичный альбумин                         | Подкожно 1 мл через день  | 30 дней            | Системный        | [50, 51] |
| Крысы массой 350–400 г     | Нативный яичный альбумин                         | Подкожно 0,2 мл через день  | 60 дней            | Системный        | [52]     |
| Крысы массой 350–400 г     | Нативный яичный альбумин с адьювантом Фрейнда    | Внутрибрюшинно по 0,2 мл в 5 точек: в паховые и подмышечные области подкожно слева и справа   | Однократно         | Системный        | [53]     |
| Сирийские хомяки           | Нативная овечья плазма с адьювантом Фрейнда      | В симметричные подмышечные и паховые области, внутрибрюшинно из расчета 0,1 мл в каждую точку | 60 дней            | Системный        | [54]     |
| Сирийские хомяки           | Нативная свиная плазма                           | Подкожно по 0,025 мл/г ежедневно  | 60 дней            | Нефротический    | [55]     |
| Сирийские хомяки           | Человеческая плазма с адьювантом Фрейнда         | В симметричные подмышечные и паховые области, внутрибрюшинно из расчета 0,1 мл в каждую точку | Однократно         | Системный        | [56]     |
| Сирийские хомяки           | Нативная бычья плазма                            | Подкожно по 0,025 мл/г ежедневно  | 60 дней            | Кардиальный      | [57]     |
| Сирийские хомяки           | Нативная плазма человека с адьювантом Фрейнда    | В симметричные подмышечные и паховые области, внутрибрюшинно из расчета 0,1 мл в каждую точку | 60 дней            | Системный        | [58]     |
| Сирийские хомяки           | Нативная плазма человека                         | Подкожно по 0,025 мл/г ежедневно  | 60 дней            | Системный        | [59]     |
| <i>Прочие модели</i>       |  |   |                    |                  |          |
| Белые мыши                 | 3-метилхолантрен [3], 4-(диметиламино) азобензен | –   | –                  | Системный        | [60]     |
| Белые мыши                 | Кремниевая кислота                               | Кормление или внутривенное введение   | –                  | Системный        | [45]     |



жеродный белок, а амилоид — как белковый преципитат, откладывающийся в местах образования иммунного комплекса. Эта теория также неспособна объяснить, почему образование амилоида вызывают кремниевая кислота и небелковый амилоидоген 3-метилхолантрен [3], 4-(диметиламино) азобензен.

3. Теория диспротеиноза, или органопротеиноза, V. Cagli (1961) рассматривает амилоид как результат нарушения обмена белков, вызывающий накопление в плазме грубодисперсных белковых фракций и аномальных белков [70]. Эта теория также находится в прямом противоречии с вышеуказанными фактами.

Ни одна из этих теорий не объясняет причин органоспецифичности либо локализованности амилоидного поражения, например при наследственных локальных амилоидозах.

Таким образом, рассматриваемые теории амилоидогенеза на сегодняшний день не могут объединить все известные способы формирования амилоида. По этой причине мы рискуем предложить собственную гипотезу: амилоид может быть синтезирован из любого белка, способного к образованию β-листа амилоидной конформации. Такой белок, попав в достаточном количестве в несвойственное ему место, где ионная сила тканевой жидкости обеспечивает переход конформации β-листов в амилоидную форму, подвергается -С-С- протеолизу

с удалением неамилоидной части. После этого происходит химическое взаимодействие с полисахаридами, находящимися в ближайшем окружении преобразованной молекулы белка, предположительно по механизму реакций Майяра (скорее всего, неферментативное), и/или тубулиновыми белками-затравками, а также кремнием в ионной форме. Молекулы затравки (полисахариды, тубулиновые белки, ионизированный кремний) служат основной причиной формирования неблагоприятной величины ионной силы среды и потому осаждают на себе амилоидный белок. Возможно, что некоторые белки не нуждаются в предшествующем дисфолдингу протеолизе. Эта гипотеза удовлетворительно объясняет, почему амилоид никогда не образуется в пораженном органе, поскольку избыточный белок вырабатывается в пораженном органе, для которого он свойственен, и хорошо согласуется с наличием органоспецифичности и локализованности амилоидных отложений.

### Конфликт интересов

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий.

Авторы статьи подтвердили отсутствие иного конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Козловская Л.В., Рамеев В.В., Саркисова И.А. Амилоидоз у пожилых. *Клиническая медицина: Научно-практический журнал*. 2005; 83 (6): 12–20.
2. Chiu K., So K.-F., Chuen-Chung Chang R. Progressive Neurodegeneration of Retina in Alzheimer's disease – Are β-Amyloid Peptide and Tau New Pathological Factors in Glaucoma? *Glaucoma. Basic and Clinical Aspects*. 2013. Rumelt Sh. (ed.). <http://www.intechopen.com/books/glaucoma-basic-and-clinical-aspects/progressive-neurodegeneration-of-retina-in-alzheimer-s-disease-are-amyloid-peptide-and-tau-new-patho> (available: 27.01.2015)
3. Kitazawa M., Green K.N., Caccamo A., La Ferla F.M. Genetically augmenting Abeta42 levels in skeletal muscle exacerbates inclusion body myositis-like pathology and motor deficits in transgenic mice. *Am. J. Pathol.* 2006; 168 (6): 1986–1997.
4. Vattemi G., Nogalska A., King Engel W., D'Agostino C., Checler F., Askanas V. Amyloid-beta 42 is preferentially accumulated in muscle fibers of patients with sporadic inclusion-body myositis. *Acta Neuropathol.* 2009; 117 (5): 569–574.
5. Gomperts S.N., Rentz D.M., Moran E., Becker J.A., Locascio J.J., Klunk W.E., Mathis C.A., Elmaleh D.R., Shoup T., Fischman A.J., Hyman B.T., Growdon J.H., Johnson K.A. Imaging amyloid deposition in Lewy body diseases. *Neurology*. 2008; 71 (12): 903–910.
6. Irvine G.B., El-Agnaf O.M., Shankar G.M., Walsh D.M. Protein aggregation in the brain: the molecular basis for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Mol. Med.* 2008; 14: 451–464.
7. Head E., Lott I.T. Down syndrome and beta-amyloid deposition. *Curr. Opin. Neurol.* 2004; 17 (2): 95–100.
8. Luheshi L.V., Dobson C.M. Bridging the gap: from protein misfolding to protein misfolding diseases. *FEBS Lett.* 2009; 583: 2581–2586.
9. Nakazato M., Matsukura S. New Type of Amyloidosis b) Islet Amyloid Polypeptide (IAPP/Amylin) in Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Internal Medicine*. 1993; 32 (12): 928–929.
10. Гендлин Г.Е. Амилоидоз почек. *Лечащий врач*. 2000; 2: 8–10.
11. Брин В.Б., Габуева А.А., Козырев К.М. Влияние янтарной кислоты и сульфидной минеральной воды «Редант-4» раздельно и в их сочетании на функционально-структурное состояние почек при моделировании генерализованного амилоидоза нефропатического типа. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2010; 7 (121): 33–37.
12. Кисиева З.А., Брин В.Б., Козырев К.М. Влияние милдроната и ацизола на основные процессы мочеобразования и экскрецию электролитов у сирийских золотистых хомяков с моделью экспериментальной амилоидной нефропатии [Электронный ресурс]. *Современные проблемы науки и образования*. 2014; (2): 9 с. <http://www.science-education.ru/pdf/2014/2/656.pdf> (дата обращения: 27.01.2015).
13. Sjakste N., Baumann L., Boucher J.L., Dzintare M., Meirena D., Sjakste J., Lauberte L., Kalvinsh I. Effects of gamma-butyrobetaine and mildronate on oxide production in lipopolysaccharide-treated rats. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2004; 94 (1): 46–50.
14. Forloni G., Angeretti N., Smirondo S. Neuroprotective activity of acetyl-L-carnitine: studies *in vitro*. *J. Neurosci. Res.* 1994; 37 (1): 92–96.
15. Jang M.H., Piao X.L., Kim H.Y., Cho E.J., Baek S.H., Kwon S.W., Park J.H. Resveratrol oligomers from *Vitis amurensis* attenuate beta-amyloid-induced oxidative stress in PC12 cells. *Biol. Pharm. Bull.* 2007; 30: 1130–1134.
16. Savaskan E., Olivieri G., Meier F., Seifritz E., Wirz-Justice A., Muller-Spahn F. Red wine ingredient resveratrol protects from beta-amyloid neurotoxicity. *Gerontology*. 2003; 49: 380–383.
17. Козлов В.А., Голенков А.В., Сапожников С.П. Эффекты красных сухих вин и других алкогольных напитков на развитие и течение болезни Альцгеймера: очевидное, сомнительное и неизвестное. *Психическое здоровье*. 2014; 6 (97): 81–88.
18. База знаний по биологии человека [Электронный ресурс]. <http://humbio.ru/humbio/immunology/x003ee6f.htm> (дата обращения: 27.01.2015).
19. Alam S., Suzuki H., Tsukahara T. Alternative splicing regulation of APP exon 7 by RBFox proteins. *Neurochem. Int.* 2014; pii: S0197-0186(14)00184-3. doi: 10.1016/j.neuint.2014.08.001.
20. Goate A., Chartier-Harlin M.C., Mullan M., Brown G., Crawford F., Fidani L., Giuffra L., Haynes A., Irving N., James L., Mant R., Newton P., Rooke K., Rogues P., Talbot C., Pericak-Vance M.,

- Roses A., Williamson R., Rossor M., Owen M., Hardy J. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*. 1991; 349: 704–706.
21. Tanzi R., Gusella J., Watkins P., Bruns G.A., St George-Hyslop P., Van Keuren M.L., Patterson D., Pagan S., Kurnit D.M., Neve R.L. Amyloid beta-protein gene: cDNA, mRNA distribution and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science*. 1987; 235: 880–884.
  22. Ando Y., Nakamura M., Araki S. Transthyretin-related family-amyloidotic polyneuropathy. *Arch. Neurol.* 2005; 62: 1057–1062.
  23. Zhang C., Khandelwal P.J., Chakraborty R., Cuellar T.L., Sarangi S., Patel S.A., Cosentino C.P., O'Connor M., Lee J.C., Tanzi R.E., Saunders A.J. An AICD-based functional screen to identify APP metabolism regulators. *Mol. Neurodegener.* 2007; 2 (15): 19 p. (page number not for citation purposes). DOI: 10.1186/1750-1326-2-15.
  24. Lewis J., Dickson D.W., Lin Wen-Lang, Chisholm L., Corral A., Jones G., Yen Shu-Hui, Sahara N., Skipper L., Yager D., Eckman C., Hardy J., Hutton M., McGowan E. Enhanced Neurofibrillary Degeneration in Transgenic Mice Expressing Mutant Tau and APP. *Science*. 2001; 5534: 1487–1491.
  25. Allen K.D., Chernova T.A., Tennant E.P., Wilkinson K.D., Chernoff Y.O. Effects of the ubiquitin system alterations on the de novo formation and loss of a yeast prion. *J. Biol. Chem.* 2007; 282: 3004–3013.
  26. Bailleul P.A., Newnam G.P., Steenbergen J.N., Chernoff Y.O. Genetic study of interactions between the cytoskeletal assembly protein Sla1 and prion-forming domain of the release factor Sup35 (eRF3) in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*. 1999; 153: 81–94.
  27. Ganusova E.E., Ozolins L.N., Bhagat S., Newnam G.P., Wegrzyn R.D., Sherman M.Y., Chernoff Y.O. Modulation of prion formation, aggregation and toxicity by the actin cytoskeleton in yeast. *Mol. Cell. Biol.* 2006; 26: 617–629.
  28. Strittmatter W., Saunders A., Schmechel D., Pericak-Vance M., Englund J., Salvesen G., Roses A. Apolipoprotein E: High avidity binding to b-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1993; 90: 1977–1981.
  29. Chernoff Y.O. Protein heredity and evolution. In: Charles Darwin and Modern Biology: The Intern. Sci. Conference. E. I. Kolchinskii, A.A. Fedotova (eds). *St. Petersburg: Nestor-Istoriia*. 2010; 76–94.
  30. Rivas A.L., Tintle L., Meyers-Wallen V., Scarlett J.M., Van Tassel C., Quimby F.W. Inheritance of renal amyloidosis in Chinese Shar Pei dogs. *J. Hered.* 1993; 84 (6): 438–442.
  31. Vidt J. SPAID — Shar-Pei Autoinflammatory Disorder [Электронный ресурс]. <http://drjwv.com/wp/2014/03/20/spaid-shar-pei-autoinflammatory-disorder/> свободный (дата обращения: 27.01.2015).
  32. Olsson M., Meadows J.R., Truvé K., Rosengren Pielberg G., Puppo F., Mauceli E., Quilez J., Tonomura N., Zanna G., Docampo M.J., Bassols A., Avery A.C., Karlsson E.K., Thomas A., Kastner D.L., Bongcam-Rudloff E., Webster M.T., Sanchez A., Hedhammar A., Remmers E.F., Andersson L., Ferrer L., Tintle L., Lindblad-Toh K. A novel unstable duplication upstream of HAS2 predisposes to a breed-defining skin phenotype and a periodicfever syndrome in Chinese Shar-Pei dogs. *PLoS Genet.* 2011; 7 (3): 1001332. DOI: 10.1371
  33. Bowles M.H., Mosier D.A. Renal amyloidosis in a family of beagles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1992; 201 (4). P. 569–574.
  34. Науменко Е.С. Спонтанный амилоидоз у низших обезьян: (патологическая анатомия, некоторые вопросы патогенеза). Автореф. дис. ... канд. биол. наук. *Ставрополь*. 2004. 24 с.
  35. Podlisy M.B., Tolan D.R., Selkoe D.J. Homology of the amyloid beta protein precursor in monkey and human supports a primate model for beta amyloidosis in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 1991; 138 (6): 1423–1435.
  36. Oakley H., Cole S.L., Logan S., Maus E., Shao P., Craft J., Guillozet-Bongaarts A., Ohno M., Disterhoft J., Van Eldik L., Berry R., Vassar R. Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with the familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *J. Neurosci.* 2006; 26 (40): 10129–10140.
  37. Chew D.J., DiBartola S.P., Boyce J.T., Gasper P.W. Renal amyloidosis in related Abyssinian cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1982; 181: 139–142.
  38. Niewold T.A., van der Linde-Sipman J.S., Murphy C., Tooten P.C., Gruys E. Familial amyloidosis in cats: Siamese and Abyssinian AA proteins differ in primary sequence and pattern of deposition. *Amyloid.* 1999; 6 (3): 205–209.
  39. Littman M.P. Protein-losing Nephropathy in Small Animals. *Vet. Clin. Small Anim.* 2011; 41: 31–62. DOI: 10.1016/j.cvsm.2010.09.006
  40. Multhaup G., Schlicksupp A., Hesse L. The amyloid precursor protein of Alzheimer's disease in the reduction of copper (II) to copper (I). *Science*. 1996; 271: 1406–1409.
  41. Xia W., Zhang J., Rezer R., Koo E. H., Selkoe D.J. Interaction between amyloid precursor protein and presenilins in mammalian cells: implications for the pathogenesis of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997; 94 (15): 8208–8213.
  42. Zhong Z., Hieaki J., Murakami K., Wang Y., Catalano R., Quon D., Cordell B. Secretion of beta-amyloid precursor protein involves multiple cleavage sites. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 627–632.
  43. Qverfurth H.W., Jiang J., Geiger J.P. Caffeine stimulates amyloid beta-peptide release from beta-amyloid precursor protein-transfected HEK293 cells. *J. Neurochem.* 1997; 69 (4): 1580–1591.
  44. Kapinus L.N. Immunomorphological study of the early stages of amyloidogenesis. *Bull. Exp. Biol. Med. (Russia)*. 1978; 85 (2): 232–234.
  45. Domagk G. Untersuchungen über die Bedeutung des reticuloendothelialen Systems für die Entstehung d. Amyloids, *Virchows Archiv. B. CCLIII*. 1924; 253: 594–638.
  46. Cui D., Kawano H., Takahashi M., Hoshii Y., Setoguchi M., Gondo T., Ishihara T. Acceleration of murine AA amyloidosis by oral administration of amyloid fibrils extracted from different species. *Pathol. Int.* 2002; 52 (1): 40–45.
  47. Kennedy J.S., Anderson J.D. The effect of treatment of the associated disease on the development of amyloidosis in the experimental animal. *J. Pathol.* 1983; 141 (1): 11–15.
  48. Грицман А.Ю. Некоторые вопросы экспериментальной терапии амилоидоза и резорбции амилоида. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. *М*. 1974. 24 с.
  49. Zaalishvili T.V., Kozyrev K.M. Methods simulation of amyloidosis in experimental animals. *Adv. Curr. Nat. Sci. (Russia)*. 2005; 2: 78–79.
  50. Pat. 2269825 Russian Federation (51) IPC G09B23/28 the Way of modeling of experimental amyloidosis in animals. Zaalishvili T.V., Kozyrev K.M. applicants and patent holder of the State Educational Institution of Higher Professional Education North-Ossetian State Medical Academy of the Federal Agency for Healthcare and Social Development of the Russian Federation. No. 2004127649/14, Appl. 15.09.2004; Publ. 10.02.2006. Bull. № 11. 7 p.
  51. Кравков Н.П. Об амилоиде, экспериментально вызываемом у животных. Автореф. дис. ... докт. мед. наук *СПб*. 1894. 46 с.
  52. Pat. 2373581 Russian Federation (51) IPC G09B23/28 Method modeling of experimental amyloidosis in animals. Gabueva A.A., Kozyrev K.M., Brin V.B. applicants and patent holder of the State Educational Institution of Higher Professional Education North-Ossetian State Medical Academy of the Federal Agency for Healthcare and Social Development of the Russian Federation. No. 2008128201/14, Appl. 10.07.2008; Publ. 20.11.2009. Bull. № 32. 8 p.
  53. Sokolovskiy N.V. Functionally and morphological characteristics of the experimental prophylactic of cardiac amyloidosis rats acizol

- and succinic acid. *Modern Probl. Sci Ed.* 2014; 1: 19. <http://www.science-education.ru/pdf/2014/1/450.pdf> (available: 27.01.2015).
54. Pat. 2347279 Russian Federation (51) IPC G09B23/28 the Way of modeling of experimental amyloidosis in animals. Puhova I.U., Brin V.B., Kozyrev C.M. applicants and patent holder of the State Educational Institution of Higher Professional Education North-Ossetian State Medical Academy of the Federal Agency for Healthcare and Social Development of the Russian Federation. No. 2007135901/14, Appl. 27.09.2007; Publ. 20.02.2009. Bull. № 6. 7 p.
  55. Pat. 2473133 Russian Federation (51) IPC G09B 23/28; A61K 31/502; A61P 13/12 Method of prevention of systemic amyloidosis and its renal forms in experimental animals. Brin V.B., Belikova A.T., Kozyrev K.M. applicants and patent holder of the State Educational Institution of Higher Professional Education North-Ossetian State Medical Academy of the Federal Agency for Healthcare and Social Development of the Russian Federation. No. 2011112243/14, Appl. 30.03.2011; Publ. 20.01.2013. Bull. № 2. 10 p.
  56. Pat. 2270672 Russian Federation (51) IPC A61K 31/15; A61P 13/12 Method of prevention and treatment of systemic amyloidosis and its renal forms in experimental animals. Zaalishvili T.V., Kozyrev K.M. applicants and patent holder of the State Educational Institution of Higher Professional Education North-Ossetian State Medical Academy of the Federal Agency for Healthcare and Social Development of the Russian Federation. No. 2004127648/14, Appl. 15.09.2004; Publ. 27.02.2006. Bull. № 6. 7 p.
  57. Pat. 2306617 Russian Federation (51) МПКG09B23/28 the Way of modeling of experimental amyloidosis in animals. Kozyrev K.M., Zaalishvili T.V., Brin V.B., Gioeva Z.V. applicants and patent holder of the State Educational Institution of Higher Professional Education North-Ossetian State Medical Academy of the Federal Agency for Healthcare and Social Development of the Russian Federation. No. 2006113109/13, Appl. 18.04.2006; Publ. 20.09.2007. Bull. № 36. 8 p.
  58. Pat. 2446482 Russian Federation (51) IPC G09B23/28 the Way of modeling of experimental amyloidosis in animals. Brin V.B., Belikova A.T., Kozyrev K.M. applicants and patent owner of the State Educational Institution of Higher Professional Education North-Ossetian State Medical Academy of the Federal Agency for Healthcare and Social Development of the Russian Federation. No. 2010146365/14, Appl. 13.11.2010; Publ. 27.03.2012. Bull. № 9. 9 p.
  59. Pat. 2473134 Russian Federation (51) IPC G09B23/28 Method of prevention of systemic amyloidosis and its renal forms in experimental animals. Belikova A.T., Brin V.B., Kozyrev K.M. applicants and patent owner of the State Educational Institution of Higher Professional Education North-Ossetian State Medical Academy of the Federal Agency for Healthcare and Social Development of the Russian Federation. No. 2011111891/14, Appl. 29.03.2011; Publ. 20.01.2013. Bull. № 2. 9 p.
  60. Akamatsu Y., Ikegami R. Induction of hepatoma and systemic amyloidosis in mice by 4-(dimethylamino) azobenzene feeding. *Gann.* 1968; 59 (3): 201–206.
  61. Шварц С.С. *Экологические закономерности эволюции. М.: Наука.* 1980. 153 с.
  62. Stefani M., Dobson C.M. Protein aggregation and aggregate toxicity: new insights into protein folding, misfolding diseases and biological evolution. *J. Mol. Med.* 2003; 81: 678–699.
  63. Sapozhnikov S. P. Role of silicon compounds in the development of autoimmune processes. *Trace Elements in Medicine (Russia).* 2013; 3: 3–13.
  64. Lansbury P.T., Jr., Caughey B. The chemistry of scrapie infection: implications of the 'ice 9' metaphor. *Chemistry & Biology.* 1995; 2: 1–5.
  65. Kim J.I., Cali I., Surewicz K., Kong Q., Raymond G.J., Atarashi R., Race B., Qing L., Gambetti P., Caughey B., Surewicz W.K. Mammalian prions generated from bacterially expressed prion protein in the absence of any mammalian cofactors. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 14083–14087.
  66. Wang F., Wang X., Yuan C.G., Ma J. Generating a prion with bacterially expressed recombinant prion protein. *Science.* 2010; 327: 1132–1135.
  67. Teilum G. Studies on pathogenesis of amyloidosis; effect of nitrogen mustard in inducing amyloidosis. *J. Lab. Clin. Med.* 1954; 43: 367.
  68. Letterer E. Studienuber Art und Entstehung des Amyloids. *Beitr. Path. Anat.* 1926; 75: 486–588.
  69. Loeschke H. Vorstellungenuber das Wesen von Hyalin und amyloid auf Grund von serologische. *Versuchen. Beitr. path. Anat.* 1927; 77: 231–239.
  70. Cagli V. La amiloidosi. Policlinico. *Sez. prat.* 1961; 68 (49): 1801–1814.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Козлов Вадим Авенирович**, доктор биологических наук, кандидат медицинских наук, профессор кафедры фармакологии, клинической фармакологии и биохимии Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова  
**Адрес:** 428015, Чебоксары, Московский пр-т, д. 45, **тел.:** +7 (8352) 45-26-73, **e-mail:** rooh12@yandex.ru

**Сапожников Сергей Павлович**, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова  
**Адрес:** 428015, Чебоксары, Московский пр-т, д. 45, **тел.:** +7 (8352) 45-26-73, **e-mail:** adaptagon@mail.ru

**Шентухина Алена Игоревна**, студентка 5-го курса медицинского факультета Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова  
**Адрес:** 428015, Чебоксары, Московский проспект, д. 45, **тел.:** +7 (8352) 45-26-73, **e-mail:** priffetik@bk.ru

**Голенков Андрей Васильевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой психиатрии, медицинской психологии и неврологии Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова  
**Адрес:** 428015, Чебоксары, Московский пр-т, д. 45, **тел.:** +7 (8352) 45-26-73, **e-mail:** golenkova@inbox.ru

Л.И. Колесникова<sup>1</sup>, О.А. Вантеева<sup>1</sup>, Н.А. Курашова<sup>1</sup>, Б.Г. Дашиев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Республиканский перинатальный центр, Улан-Удэ, Республика Бурятия, Российская Федерация

## Глутатионзависимые ферменты и глутатион при бесплодии мужчин с различной массой тела

**Цель исследования:** изучить глутатиондисульфидную систему антиоксидантной защиты у мужчин с различными индексами массы тела и бесплодием. **Методы:** обследовано 60 мужчин с бесплодием — 30 с нормальной массой тела и 30 с избыточной, а также 30 фертильных мужчин контрольной группы. В качестве материала для исследований использовали гемолизат, приготовленный из эритроцитов. Содержание восстановленного (GSH) и окисленного глутатиона (GSSG), а также активность глутатионзависимых ферментов определяли на спектрофлуориметре SHIMADZU-1501 (Япония). **Результаты:** у мужчин с бесплодием с нормальной массой тела снижение содержания GSH на 15,35% сочеталось со снижением активности глутатионредуктазы (GR) на 53,41%, глутатионпероксидазы (GPO) на 51,44% и повышением активности глутатион-S-трансферазы (GST) на 31,52% по сравнению с показателями контрольной группы. В группе мужчин с бесплодием с избыточной массой тела по сравнению с фертильными мужчинами имело место снижение активности GR на 56,77% и GPO на 56,22% на фоне стабильного содержания GST. Концентрация GSH в группе с бесплодием была снижена на 20,08%, а концентрация GSSG повышена на 20,38%. **Заключение:** установлено, что у мужчин с бесплодием и избыточной массой тела наиболее выражено нарушение баланса в системе глутатиона по сравнению с бесплодными мужчинами с нормальной массой тела.

**Ключевые слова:** глутатион, глутатионзависимые ферменты, антиоксидантная защита, мужское бесплодие.

(Вестник РАМН. 2015; 1: 12–16)

12

### Обоснование

Частота бесплодного брака в России составляет 15–17%, при этом показатель равный 15% — критический [1]. Таким образом, проблема бесплодия приобретает масштабы государственной [1, 2]. Традиционно ответственность за неудачу в наступлении беременности падает на женщину. Тем не менее, по данным некоторых исследований, установлено, что мужчины являются причиной бесплодного брака в 50% случаев [3, 4].

Вместе с проблемой бесплодия имеет место и увеличение числа людей, имеющих избыточную массу тела. Ис-

следователи из Национального института наук о гигиене окружающей среды США обнаружили, что выходящий за пределы нормы индекс массы тела (ИМТ) у мужчин можно расценивать как совершенно самостоятельный фактор риска формирования бесплодия [5].

Взаимосвязь избыточного веса и бесплодия у мужчин обусловлена различными причинами, к которым относят: гормональный статус, социально-культурные факторы, рацион питания, а также изменение активности системы перекисного окисления липидов — антиоксидантной защиты (ПОЛ—АОЗ). Эта система — важная метаболическая характеристика для обоих изучаемых состояний [6, 7].

L.I. Kolesnikova<sup>1</sup>, O.A. Vanteeva<sup>1</sup>, N.A. Kurashova<sup>1</sup>, B.G. Dashiev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Republican Perinatal Center, Ulan-ude, the Republic of Buryatia, Russian Federation

## Glutathione-Dependent Enzymes and Glutathione in Infertility of Men with Different Body Mass

**Objective:** Our aim was to investigate the glutathione-disulfide system of antioxidant defense in men with different body mass index and infertility.

**Methods:** 60 men with infertility were examined — 30 with normal weight and 30 with overweight. 30 fertile men were included in the control group. Hemolysate made from red blood cells was used as a material for study. The level of reduced (GSH) and oxidized glutathione (GSSG), and glutathione activity was determined by enzyme spectrofluorophotometer SHIMADZU-1501 (Japan). **Results:** In infertile men with normal body weight decrease of GSH to 15.35% was combined with a decrease in the activity of enzymes — glutathione reductase (GR) to 53.41%, glutathione peroxidase (GPO) to 51.44%, and increased activity of glutathione-S-transferase (GST) to 31.52% as compared with the control group. In the group of infertile men with overweight a decrease in the activity of GR, 56.77% and 56.22% at the GPO on the background of a stable level of GST was detected in comparison with fertile men. The concentration of GSH in infertile group decreased by 20.08%, and the concentration of GSSG increased by 20.38%. **Conclusion:** It has been established that imbalance in the glutathione system is the most prominent feature in men with infertility and overweight as compared to infertile men with normal body weight.

**Key words:** glutathione, glutathione enzymes, antioxidant protection, male infertility.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 12–16)

Вместе с тем конкретные детали состояния процессов липопероксидации в контексте взаимосвязи избыточного веса и бесплодия у мужчин изучены недостаточно, что сдерживает разработку оптимальных режимов воздействия на редокс-системы организма с целью решения проблемы infertility.

В патогенезе мужского бесплодия одну из главных ролей играет активация процессов ПОЛ, которая приводит к развитию окислительного стресса [4, 8]. Усиление процессов липопероксидации может быть связано со снижением мощности антиоксидантной защиты, в частности тиолдисульфидной системы, которая не справляется с гиперпродукцией активных форм кислорода, а соответственно, и с процессами окислительной модификации липидов.

По-прежнему остается актуальной разработка дополнительных диагностических и прогностических критериев, позволяющих создавать алгоритмы обследования и лечения бесплодия с учетом индивидуальных особенностей мужчин и женщин.

Целью настоящей работы стало изучение глутатиондисульфидной системы антиоксидантной защиты у мужчин с различными ИМТ и бесплодием.

## Методы

### Дизайн исследования

В исследовании типа «случай—контроль» приняли участие мужчины репродуктивного возраста, которые по результатам клинико-лабораторного исследования были разделены на 3 группы: мужчины с бесплодием и избыточной массой тела, мужчины с бесплодием и нормальной массой тела и фертильные мужчины (группа сравнения). Всем мужчинам было проведено исследование системы глутатиона.

### Критерии соответствия

Критерии включения в группу с бесплодием:

- возраст от 22 до 37 лет;
  - неспособность зачать ребенка в течение 1 года и более;
  - патозооспермия;
  - информированное согласие пациента на исследование.
- Критерии включения в контрольную группу:
- возраст от 22 до 37 лет;
  - реализованная фертильная функция;
  - нормозооспермия;
  - отсутствие на момент обследования острого заболевания или обострения хронического заболевания;
  - информированное согласие пациента на исследование.
- Критерия исключения:
- несоответствие критериям включения;
  - наличие тяжелых соматических заболеваний;
  - эндокринное бесплодие.

### Условия проведения

Пациенты были обследованы на базах Центра инновационной медицины (Иркутск, Российская Федерация) и Бурятского филиала НЦ ПЗСРЧ (Улан-Удэ, Республика Бурятия, Российская Федерация). Проведение исследований системы глутатиона осуществляли в лаборатории патофизиологии репродукции НЦ ПЗСРЧ.

### Продолжительность исследования

Исследование проводили в 2011–2013 гг.

### Исходы исследования

Результаты исследования подтверждают необходимость изучения системы глутатиона у мужчин с бесплодием.

### Методы регистрации исходов

В качестве материала для биохимических исследований использовали гемолизат, приготовленный из эритроцитов. Содержание восстановленного (GSH) и окисленного глутатиона (GSSG) определяли методом P.J. Hissin и R. Hilf [9]. Активность глутатионзависимых ферментов определяли по методу А.И. Карпищенко [10]. Измерения проводили на спектрофлуорофотометре SHIMADZU-1501 (Япония), состоящего из двух блоков: спектрофотометра UV-1650PC и спектрофлуориметра RF-1501.

### Этическая экспертиза

Получение информированного согласия на участие в исследовании было обязательной процедурой при включении мужчин в одну из групп. В работе с больными соблюдены этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2008).

### Статистический анализ

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с применением пакета прикладной программы STATISTICA v. 6.1 (Statsoft Inc., США). Тип распределения устанавливали по критерию Колмогорова—Смирнова. Данные представлены в виде среднегрупповых значений показателей и стандартного отклонения ( $M \pm \sigma$ , где  $M$  — среднее арифметическое,  $\sigma$  — стандартное отклонение). Для оценки статистически значимых различий полученных данных использовали критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

### Участники исследования

Для исследования состояния системы антиоксидантной защиты обследовано 60 мужчин с бесплодием, которые были разделены на 2 группы: 1-я группа — пациенты ( $n = 30$ ) с нормальным значением ИМТ = 18,5–24,9 кг/м<sup>2</sup> в возрасте 29±0,63 года; 2-я группа — пациенты ( $n = 30$ ) с повышенным значением ИМТ = 25,0–29,9 кг/м<sup>2</sup> в возрасте 27±0,63 года. Контрольную группу составили практически здоровые мужчины ( $n = 40$ ) с ИМТ = 18,5–24,9 кг/м<sup>2</sup> в возрасте 30±0,69 лет с доказанной фертильностью на момент исследования. ИМТ рассчитывали по G. Vrey (1978): масса тела (кг) / рост (м<sup>2</sup>). Основопологающим методом диагностики мужского бесплодия было исследование эякулята, которое проводили согласно Руководству ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята и спермо-цервикального взаимодействия (ВОЗ, 2001) двукратно с минимальным интервалом 2 нед [11].

### Основные результаты исследования

Результаты исследования, характеризующие состояние системы глутатиона у исследуемых пациентов, представлены в табл.

Установлено, что в группе бесплодных мужчин с нормальной массой тела содержание GSH на 15,35% ниже ( $p = 0,001$ ), а у мужчин с избыточной массой тела его концентрация снижена на 20,08% ( $p = 0,000$ ) по сравнению с контролем. В группе мужчин с увеличенным ИМТ содержание GSSG достоверно выше на 20,38% ( $p = 0,000$ ) по сравнению с контрольной группой

Таблица. Содержание компонентов глутатионовой системы у мужчин с бесплодием в зависимости от величины индекса массы тела

| Показатель          | Контрольная группа<br>M ± σ (1) | Группа с бесплодием, M±σ |                   | p < 0,05      |
|---------------------|---------------------------------|--------------------------|-------------------|---------------|
|                     |                                 | ИМТ 18,0–24,9 (2)        | ИМТ 25,0–29,9 (3) |               |
| GSH, ммоль/л        | 2,15±0,07                       | 1,82±0,06                | 1,72±0,04         | 1–2; 1–3      |
| GSSG, ммоль/л       | 2,11±0,05                       | 2,15±0,08                | 2,54±0,05         | 1–3; 2–3      |
| GR, мкмоль в мин/л  | 1364,30±330,55                  | 635,63±195,55            | 589,80±158,41     | 1–2; 1–3; 2–3 |
| GST, мкмоль в мин/л | 492,33±215,76                   | 647,53±202,65            | 495,37±124,58     | 1–2; 2–3      |
| GPO, мкмоль в мин/л | 357,73±96,87                    | 173,70±39,02             | 156,61±36,19      | 1–2; 1–3      |

и на 15,35% ( $p = 0,000$ ) – по сравнению с пациентами с нормальным значением ИМТ.

Концентрация глутатиона в условиях патологического состояния в большей степени зависит от изменения активности ферментных систем, которые регулируют соотношение его окисленной и восстановленной форм. Соответственно, если происходит изменение его содержания в клетке, то можно говорить и о нарушении в ферментативном звене системы антиоксидантной защиты. При исследовании глутатионзависимых ферментов установлено, что у мужчин с бесплодием (ИМТ 18,0–24,9) активность глутатионредуктазы (GR) была достоверно снижена на 53,41% ( $p = 0,000$ ), глутатионпероксидазы (GPO) — на 51,44% ( $p = 0,000$ ) по сравнению с контрольной группой. Также выявлено увеличение активности глутатион-S-трансферазы (GST) на 31,52% в группе мужчин с бесплодием ( $p = 0,006$ ).

У пациентов с избыточной массой тела выявлено достоверное снижение содержания GR на 56,77% ( $p = 0,000$ ) и GPO — на 56,22% ( $p = 0,000$ ) по сравнению с таковыми в контрольной группе. Недостаток GSH (субстрата для GPO) приводит к снижению активности фермента в эритроцитах мужчин с бесплодием. GPO — основной фермент, катаболизирующий перекись водорода и обладающий заметно большим сродством к ней, чем, например, каталаза. GR, восстанавливающая GSSG, также находится в угнетенном состоянии, и ее содержание снижено. Активность GST практически не изменилась. Следует отметить, что продукты перекисного окисления липидов детоксицируются посредством конъюгации с GSH, катализируемой GST. Стабильное содержание фермента говорит о том, что он не расходуется и не выполняет своих функций в полном объеме. Для регуляции многих процессов в клетках важно постоянное соотношение окисленных и восстановленных SH-групп.

### Обсуждение

Сложная многокомпонентная антиоксидантная система служит своего рода буфером, препятствующим переходу ПОЛ из физиологического состояния в патологическое. Поэтому сбой в работе механизмов АОЗ приводит к формированию окислительного стресса той или иной степени тяжести, который, как правило, сопровождает течение классического стресса (по Г. Селье), а иногда может становиться и ведущим фактором в течении патологического процесса [12]. Такой вариант рассмотрения взаимоотношения двух составляющих единого механизма напряжения всех физиологических систем с большой степенью вероятности характерен для мужчин с высоким ИМТ и бесплодием. Вероятность возникновения окислительного стресса при длительном бесплодии значительно увеличивается за счет нарушения редокс-метаболизма и формирования невротических расстройств.

В системе АОЗ выделяют так называемую непрямую АОЗ, заключающуюся в оптимизации функционирования базового метаболизма, который не предполагает генерации избыточных количеств активных форм кислорода и продуктов липопероксидации. Следуя этой логике, можно представить, что изменение мощности «митохондриальной базы» (числа, качества и активности митохондрий), как бы оно ни происходило, служит фактическим способом регулирования кислородно-перекисного состояния и зависимых от него сигнальных путей, влияющих на ход всех фундаментальных клеточных процессов [13].

Прямая антиоксидантная защита состоит из комплекса макро- и низкомолекулярных соединений, которые имеют эндогенное происхождение и частично поступают с пищей. Важнейшая роль в системе АОЗ принадлежит антиоксидантным ферментам, к которым относят супероксиддисмутазу [14, 15], комплекс ферментов системы функционирования глутатиона, включающий GPO, GR, GST [16], а также каталазу, пероксидазу [17], параоксоназу, миелопероксидазу, аконитазу и некоторые другие, которые часто представляют собой факторы первой линии обороны от продуктов свободнорадикального окисления, в том числе и ПОЛ [18, 19].

Исследование системы глутатиона в эритроцитах бесплодных мужчин показало снижение активности важнейшего компонента антиоксидантной системы — GSH, что может быть следствием повреждающего действия активных форм кислорода. Уменьшение содержания GSH ведет к повышению доступности мембраны для токсического воздействия продуктов перекисного окисления липидов, а увеличение содержания GSSG — это результат снижения антиоксидантной защиты клеток. Повышение концентрации GSSG в крови может вызывать окисление тиоловых групп белков и их инактивацию, что приведет к ускорению развития окислительного стресса.

Определение общей активности GST в крови, а также содержание тех или иных форм фермента приобретает в настоящее время большую диагностическую значимость, так как глутатион-S-трансферазной активностью обладают многие белки, локализованные в различных тканях и внутриклеточных компартментах. GPO — фермент, участвующий в процессе инактивации перекиси водорода. Поскольку это гидрофильное соединение, его проникновение в липидный слой мембран затруднено, а основная часть фермента локализована в цитозоле, а остальная — в митохондриях. Во многих реакциях, катализируемых, например, GPO или GST, две молекулы GSH соединяются дисульфидной связью и образуют GSSG. Повышение активности GST в крови мужчин с бесплодием можно объяснить истощением пула GPO. В нормально функционирующей клетке эти два фермента работают совместно: восстанавливая глутатион, они предупреждают прогрессирование пероксидации и появление ее вторичных метаболитов. При снижении активности GPO GST мобилизуется, и ее активность

увеличивается. GST — важный компонент антиоксидантной защиты от реакционных эндогенных метаболитов, образующихся при окислительном стрессе [20]. Для восстановления окисленного глутатиона в клетках существует специальный фермент — GR [21]. Снижение активности GR, возможно, связано с его активным участием в процессе биорегенерации GSSG, концентрация которого в эритроцитах возрастает при окислительном стрессе.

Многокомпонентная система антиоксидантной защиты позволяет поддерживать интенсивность свободнорадикальных процессов на оптимальном уровне, без угрозы их резкой активации и участия в развитии различных патологических состояний. Глутатион и глутатионзависимые ферменты представляют собой универсальную антиоксидантную систему и функционируют во всех компартментах клетки. Этой системе, несомненно, принадлежит главная роль в контроле содержания гидроперекиси.

### Заключение

При нарушении клеточного редокс-баланса происходит срыв работы антиоксидантной системы, вызываемый снижением содержания антиоксидантов

и ингибированием антиперекисных ферментов. Таким образом, система ферментов и антиоксидантов, обеспечивающих постоянство антиперекисного и антирадикального потенциалов клеток, не справляется с защитой организма от необратимых перекисных процессов.

Роль тиолдисульфидной системы и окислительной модификации липидов как в норме, так и при бесплодии остается недостаточно изученной. Выявление взаимосвязей между дисбалансом тиолдисульфидной системы и степенью окислительной модификации липидов в условиях окислительного стресса, сопровождающего развитие патологического процесса, весьма перспективно. Избыточный вес и ожирение как факторы риска развития мужской инфертильности могут быть ассоциированы с дисбалансом редокс-статуса организма, одним из центральных компонентов которого, а также его своеобразным маркером следует считать состояние глутатионовой системы.

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. Вантеева О.А., Курашова Н.А., Дашиев Б.Г. Анализ состояния системы антиоксидантной защиты у мужчин с бесплодием различных этнических групп. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2013; 4 (92): 102–105.
2. Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Grebenkina L.A., Labygina A.V., Suturina L.V., Dolgikh M.I., Shiphineeva T.I., Darzhaev Z.Yu., Tsyrenov T.B., Rinchindorzhieva M.P. Activity of lipid peroxidation in infertile women from different populations. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012; 154 (2): 203–205.
3. Курашова Н.А. Оценка репродуктивного потенциала мужского населения. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2014; 2 (96): 104–109.
4. Колесникова Л.И., Гребёнкина Л.А., Даренская М.А., Власов Б.Я. Окислительный стресс как неспецифическое патогенетическое звено репродуктивных нарушений. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2012; 32 (1): 58–66.
5. Sallmen M., Sandler D.P., Hoppin J.A., Blair A., Baird D.D. Reduced Fertility Among Overweight and Obese Men. *Epidemiology*. 2006; 17 (5): 520–523.
6. Вантеева О.А., Курашова Н.А., Дашиев Б.Г. Липопероксидация у мужчин с бесплодием. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2014; 2 (96): 12–15.
7. Хлякина О.В. Состояние репродуктивной системы мужчин с метаболическим синдромом, проживающих в экологически неблагоприятном регионе. *Вестник восстановительной медицины*. 2011; 4: 63–66.
8. Brody S.A. Мужское бесплодие и окислительный стресс: роль диеты, образа жизни и пищевых добавок. *Андрология и генитальная хирургия*. 2014; 3: 33–41.
9. Hissin P.J., Hilf R. Fluometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Ann. Biochem.* 1976; 74 (1): 214–226.
10. Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии. Справочник. СПб.: *Интермедика*. 2002. 600 с.
11. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью. 4-е изд. Под ред. Л.Ф. Курило. М.: *Мед-Пресс*. 2001. 144 с.
12. Колесникова Л.И., Осипова Е.В., Гребёнкина Л.А., Власов Б.Я. Окислительный стресс как индуктор патологических нарушений в организме человека. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2009; 2: 48–49.
13. Лю Б.Н., Исмаилов С.Б., Лю М.Б. Состояние цитоскелета: связь с «кислородно-перекисными» эффектами в норме, при клеточных патологиях и апоптозе. *Биомедицинская химия*. 2008; 1: 58–77.
14. Cord J.M., Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *Biol. Chem.* 2000; 244: 6049–6055.
15. Miao L., Clair D.K. Regulation of superoxide dismutase genes: Implications in disease. *Free Radic. Biol. Med.* 2009; 47: 344–350.
16. Толпыгина О.А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2012; 2–2: 178–180.
17. Bednarek-Tupikowska G., Tupikowski K., Bidzińska B., Bohdanowicz-Pawlak A., Antonowicz-Juchniewicz J., Kosowska B., Milewicz A. Serum lipid peroxides and total antioxidant status in postmenopausal women on hormone replacement therapy. *Gynecol. Endocrinol.* 2004; 19: 57–63.
18. Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: role in neutrophil-mediated toxicity. *Mol. Biol. Infect. Dis.* 2006; 14: 283–289.
19. Ефимцева Э.А., Челпанова Т.И. Параоксоназа: молекулярно-генетические аспекты и клиническое значение. *Успехи современной биологии*. 2012; 132: 282–296.
20. Sharma R., Yang Y., Sharma A., Awasthi S., Awasthi Y.C. Antioxidant role of glutathione-S-transferases: protection against oxidant toxicity and regulation of stress-mediated apoptosis. *Antioxid. Redox. Signal.* 2006; 6: 289–300.
21. Агарков А.А., Попова Т.Н., Верёвкин А.Н., Матасова Л.В. Активность глутатионовой антиоксидантной системы и НАДФН-генерирующих ферментов в сыворотке крови крыс при сахарном диабете 2-го типа и воздействии препаратов, корригирующих уровень мелатонина. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014; 157 (2): 158–162.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

*Колесникова Любовь Ильинична*, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, директор НЦПЗСРЧ

**Адрес:** 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, **тел.:** +7 (3952) 20-76-36, **e-mail:** iphr@sbamsr.irk.ru

*Вантеева Ольга Андреевна*, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции НЦПЗСРЧ

**Адрес:** 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, **тел.:** +7 (3952) 20-76-36, **e-mail:** olga\_tolpygina@mail.ru

*Курашова Надежда Александровна*, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции НЦПЗСРЧ

**Адрес:** 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д.16, **тел.:** +7 (3952) 20-76-36, **e-mail:** nakurashova@yandex.ru

*Дашиев Баир Гомбоевич*, кандидат медицинских наук, врач уролог-андролог Республиканского перинатального центра

**Адрес:** 670002, Республика Бурятия, Улан-Удэ, ул. Комсомольская, д. 1/Б, **тел.:** +7 (3012) 55-36-23,  
**e-mail:** bairdashiev@mail.ru



А.Б. Салмина, Ю.К. Комлева, Н.В. Кувачева, О.Л. Лопатина, Е.А. Пожиленкова, Я.В. Горина,  
Э.Д. Гасымлы, Ю.А. Панина, А.В. Моргун, Н.А. Малиновская

Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Российская Федерация

## Воспаление и старение мозга

*Обсуждаются современные представления о клеточно-молекулярных механизмах нейровоспаления и старения, в частности регуляции цитокинпродуцирующей активности клеток астроглиальной природы и реализации межклеточных взаимодействий. Ключевым компонентом феномена старения как результата неэффективной реализации противовоспалительного ответа являются процессы дисрегуляции продукции цитокинов — повышение интенсивности секреции провоспалительных цитокинов и дисбаланс в экспрессии соответствующих рецепторов и рецепторассоциированных белков. Расшифровка клеточных молекулярных механизмов, сопрягающих нейровоспаление и старение клеток, может дать начало новым терапевтическим стратегиям, актуальным для лечения широкого спектра заболеваний центральной нервной системы и разработки новых экспериментальных моделей заболеваний центральной нервной системы.*

**Ключевые слова:** воспаление, цитокины, астроглия, старение.

(Вестник РАМН. 2015; 1: 17–25)

В течение последних лет существенным образом изменились представления о клеточно-молекулярных механизмах воспаления [1]. Развитие воспаления связано с локальной гиперпродукцией цитокинов, активацией рецепторов врожденного иммунитета, таких как Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors, TLRs), Nod-подобные рецепторы (Nod-like receptors, NLRs), сквенджер-рецепторы и другие, формированием инфламмосом, развитием окислительного стресса, изменением экспрессии про- и противовоспалительных цитокинов, а также молекул, вовлеченных в процессы межклеточных взаимодействий, активации клеток нейрональной и глияльной природы, нейро- и ангиогенеза (интерлейкины, интерфероны, факторы роста, P2X7 рецепторы, CD 23, CD 38, CD 157, белки системы комплемента и их рецепторы, iNOS, COX 2, НАДФН-оксидаза и другие ферменты). Значительный прогресс достигнут в понимании механизмов развития иммунного ответа и системных реакций организма при воспалении, а также причин перехода воспаления в хроническую форму [2, 3].

Активность иммунной системы и выраженность воспалительной реакции, с одной стороны, определяют эффективность защиты организма от действия факторов, провоцирующих повреждение и дегенерацию, но, с другой, могут стать важным механизмом старения. Прогрес-

сирующая дегенерация при старении организма ассоциирована со многими ключевыми признаками воспаления (окислительный стресс, повреждение клеток, дисрегуляция продукции цитокинов и пр.), поэтому неудивительно, что все большее внимание исследователей привлекают механизмы, сопрягающие эти два процесса, в т.ч. в контексте развития так называемых возрастзависимых заболеваний. Появление термина «inflammaging» (воспаление и старение) в полной мере отражает эту тенденцию в определении исследовательских приоритетов [4].

17

### Нейровоспаление: основные механизмы реализации

Нейровоспаление — неотъемлемый компонент патогенеза нейродегенерации, проявляющейся аксональной и синаптической дисфункцией, изменениями межклеточных взаимодействий, деградацией макромолекул, нарушениями метаболизма и развитием апоптоза. Хотя существуют представления о не столь однозначной сопряженности процессов нейродегенерации и воспаления. Кроме того, нейровоспаление актуально и для развития заболеваний, в патогенезе которых долгое время не учитывали или не признавали воспалительный или иммунный механизмы (депрессия, аутизм, шизофрения) [5].

A.B. Salmina, Yu.K. Komleva, N.V. Kuvacheva, O.L. Lopatina, E.A. Pozhilenkova, Ya.V. Gorina, E.L. Gasymlly,  
Yu.A. Panina, A.V. Morgun, N.A. Malinovskaya

V.F. Voyno-Yasenetksy Krasnoyarsk State Medical University, Russian Federation

## Inflammation and Brain Aging

*The review covers current concepts on cell and molecular mechanisms of neuroinflammation and aging with the special focus on the regulation of cytokine-producing activity of astroglial cells and intercellular communication. The review reflects that a key component of the aging phenomenon as a result of ineffective implementation of anti-inflammatory response are processes of the dysregulated cytokine production, in particular, an increase in the secretion of proinflammatory cytokines and an imbalance in the expression of the receptors and receptor associated proteins. Interpretation of the molecular mechanisms of cell conjugating neuroinflammation and aging cells can give rise to new therapeutic strategies that are relevant to the treatment of a wide range of central nervous system diseases and the development of new experimental models of diseases of the central nervous system.*

**Key words:** inflammation, cytokines, astroglia, aging.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 17–25)

Развитие нейровоспаления может быть индуцировано как вирусными или бактериальными агентами, так может носить и стерильный характер и быть обусловлено стрессом, гипоксически-ишемическим повреждением, аккумуляцией продуктов повреждения клеток, развитием феномена эксайтотоксичности, действием патологически измененных макромолекул. Собственно нейрональная активность может вызвать так называемое нейрогенное воспаление, которое, по своей сути, представляет физиологический феномен, вполне объяснимый с учетом недавно полученных экспериментальных доказательств развития повреждения ДНК при физиологической активности мозга [6]. Например, негативные социальные взаимодействия, сопряженные с развитием стресса, приводят к значительному увеличению продукции провоспалительных цитокинов в периферической крови и в ткани головного мозга [7].

Повреждение клеток-мишеней изменяет экспрессию молекул, определяющих эффективность межклеточных взаимодействий, и ответ клеток на повреждение, в клетках в очаге формирующегося воспаления происходит образование высокомолекулярных внутриклеточных комплексов — инфламмасом, а также активация рецепторов, воспринимающих ДНК, РНК, другие молекулы, высвобождающиеся из поврежденных клеток, и вызывающих активацию специфических внутриклеточных сигнальных путей, что обеспечивает секрецию эффекторными клетками провоспалительных цитокинов (интерфероны, ИЛ 1, 18 и 33), модуляцию апоптоза и аутофагии. Кроме того, активированные в клетках, в очаге нейровоспаления, ферменты повреждают нейрофиламенты, вызывают разрывы и нарушения целостности цитоскелета и мембраноцитоскелетных взаимодействий, что приводит к блеббингу, высвобождению мембранных микрочастиц, имеющих антигенный и прокоагулянтный потенциал, а также экзосом, несущих в своем составе молекулы (микроРНК, мРНК), стимулирующие механизмы иммунного ответа. В результате активации в зоне воспаления клетки астро- и микроглии становятся продуцентами большого спектра цитокинов, белков клеточной адгезии, ферментов, модифицирующих внеклеточный матрикс, совокупная активность которых определяет интенсивность нейровоспаления и эффективность процессов восстановления за счет активации процессов репаративного нейрогенеза [1, 5].

Помимо резидентных клеток миелоидной природы — микроглии, традиционно рассматриваемой в качестве ключевого участника процесса нейровоспаления [8], все больше внимания уделяют роли астроцитов как эффекторных клеток в очаге воспаления в ткани головного мозга. Структурно-функциональная гетерогенность астроцитов и участие этих клеток в регуляции функциональной активности нейронов, проницаемости гематоэнцефалического барьера, локальном иммунном ответе создают основу для реализации ими про- или противовоспалительного потенциала при многих видах патологии головного мозга. С одной стороны, астроциты — продуценты большого количества глотрансмиттеров и цитокинов, а с другой — мишень действия факторов про- и противовоспалительного характера [9]. Активация астроцитов молекулами категории PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) в результате действия инфекционных агентов или категории DAMPs (damage-associated molecular patterns), высвобождающихся из активированных или поврежденных клеток, происходит благодаря наличию широкого спектра рецепторов врожденного иммунитета, а действие на эти клетки медиаторов воспаления зависит

от активности рецепторов цитокинов, молекул клеточной адгезии и факторов роста, экспрессия которых в астроглии, как правило, значительно возрастает при развитии воспаления [1].

### Цитокинпродуцирующая активность клеток при нейровоспалении и старении

Активированные астроциты и микроглия секретируют цитокины в большом количестве, в частности ИЛ 1, ИЛ 6, интерфероны, ФНО  $\alpha$ , ТФР  $\beta$ . В большинстве случаев эта секреция происходит путем регулируемого экзоцитоза, но в ряде случаев — за счет активности пуринергических P2X7 рецепторов и инфламмасом [10].

P2X7 рецепторы экспрессируются нейронами, но преимущественно клетками микроглии и астроглии [10], длительное действие АТФ как естественного лиганда «переключает» P2X7 рецепторы с режима работы «типичного» селективного ионного канала для малых катионов (в т.ч. для  $\text{Ca}^{2+}$ ) в режим образования больших пор, что приводит к увеличению проницаемости мембраны и способствует дезагрегации актина и быстрой перестройке цитоскелета, процессам мембранного блеббинга, лизиса клеток, высвобождения цитокинов и апоптоза. Стимуляция P2X7 рецепторов запускает процесс апоптоза астроцитов, контролирует их фагоцитарную активность и секрецию ими провоспалительных цитокинов [11]. В клетках микроглии P2X7 рецепторы регулируют ключевые события их активации при воспалении, например секрецию цитокинов, продукцию свободных радикалов, в т.ч. при хронической нейродегенерации [12].

Интересно, что спектр продуцируемых астроцитами цитокинов может существенным образом меняться в динамике после действия повреждающего фактора с максимальной экспрессией при развитии реактивного глиоза и формировании астроглиального рубца, определяющего характер восстановления ткани после перенесенного повреждения. В то же время сами астроциты — это клетки-мишени для действия цитокинов, синтезируемых при нейровоспалении, причем индукторы врожденного иммунного ответа (например, активаторы TLR 3- и TLR 4-рецепторов, индукторы инфламмасом NLRP 3) стимулируют астроциты к продукции цитокинов (ИЛ 6, ФНО  $\alpha$ , ИФН  $\gamma$ ) со значительной большей интенсивностью, чем это делают индукторы приобретенного иммунитета, однако именно для действия последних характерна уникальная способность индуцировать антигенпрезентирующую активность астроцитов. ИЛ 1 $\beta$  активирует астроциты, что приводит к изменению транспорта и метаболизма глюкозы, активности ферментов антиоксидантной защиты в астроглии, продукции нейротрофических факторов, а также оказывает стимулирующее действие в отношении процессов нейро- и ангиогенеза. Регуляция продукции цитокинов астроцитами происходит под контролем активности коннексиновых каналов Cx43 [13] и процессов реорганизации цитоскелета.

Помимо участия в каскаде событий, обеспечивающих развитие иммунного ответа и воспаления, цитокины оказывают значительное влияние на ключевые механизмы функционирования клеток центральной нервной системы.

- ФНО  $\alpha$  регулирует глутаматергическую сигнальную трансдукцию, потенцируя эффекты глутамата.
- ИЛ 6 участвует в регуляции процессов нейрональной регенерации.
- ИЛ 1 $\beta$  регулирует миграцию клеток астроглиальной и нейрональной природы в процессе нейрогенеза [14].

Эти эффекты максимально выражены в развивающемся мозге, но угасают по мере старения. ИЛ 1 $\beta$ , продуцируемый астроцитами нейрогенных ниш, необходим для реализации феномена LTP-долговременной потенциации и запоминания, причем животные, экспрессирующие мутантную форму рецептора ИЛ 1, демонстрируют отчетливые нарушения памяти.

- ИЛ 1 $\alpha$  опосредует негативные эффекты нейровоспаления на синаптическую активность и когнитивные функции мозга.
- Эксклюзивно экспрессируемый в ткани мозга белок IL1RAPL1, регулирующий активность рецептора ИЛ 1, участвует в контроле синаптогенеза [15], причем нарушение этой регуляторной функции отмечено при аутизме и задержке психического развития.
- ИЛ 1 $\beta$  и 6, действуя координированно с многочисленными факторами роста и нейротрансмиттерами, регулируют развитие головного мозга.
- ИЛ 1 и 6, ФНО  $\alpha$  участвуют в регуляции нейропластичности и сложных форм поведения [16].

Дизрегуляция продукции цитокинов, в частности увеличение секреции провоспалительных цитокинов и дисбаланс в экспрессии соответствующих рецепторов и рецепторассоциированных белков — это ключевой компонент феномена старения, которое в контексте теории «inflammaging» рассматривают как результат неэффективной реализации противовоспалительного ответа с сопутствующим развитием возрастассоциированных заболеваний. Хроническое воспаление может соответствовать как физиологическому, так и ускоренному старению. Последнее сопровождается спровоцированной действием провоспалительных цитокинов и окислительным стрессом дисфункцией аппарата регуляции длины теломерных участков хромосом [17]. Постоянному увеличению концентрации провоспалительных цитокинов в периферической крови соответствует более короткая длина теломерных участков хромосом, что исследователи связывают с развитием хронического окислительного стресса. Однако интересно, что более длинные теломерные участки соответствуют сниженному объему гиппокампа и наличию нарушений запоминания. Исследователи связывают это с затруднениями пролиферации клеток при нейрогенезе, который определяет эффективность формирования памяти [18]. Пациенты с минимальными когнитивными нарушениями имеют достоверно меньшую длину теломер по сравнению со здоровыми людьми, что объясняют процессами старения и нейродегенерации. Недавно было предложено использовать определение длины теломерных участков хромосом в качестве биомаркера когнитивных нарушений [19]. Таким образом, пока трудно однозначно судить о том, насколько сокращение длины теломерных участков, которое рассматривают как общепризнанный маркер клеточного старения, способно отражать сохранность процессов нейрогенеза и когнитивных функций. В этом контексте интересны были бы исследования, направленные на изучение активности теломеразы и длины теломерных фрагментов в клетках нейрональной и глияльной природы, а не в лейкоцитах периферической крови, как это было выполнено в цитированных выше работах. В настоящее время известно, что теломеразная активность и длина теломер увеличиваются в вирусинфицированных астроцитах с активированным TLR-опосредованным иммунным ответом [20]. Напротив, значительное подавление теломеразной активности происходит при дифференцировке прогениторных клеток в астроциты, что связывают с влиянием ТФР  $\beta$ ,

направляющим клетки на путь дифференцировки в клетки астроглиальной природы. Прогрессирующее сокращение длины теломерных участков более характерно для клеток микро- и олигодендроглии [21].

### Механизмы межклеточной коммуникации при воспалении и старении: роль HMGB1

Развитие нейровоспаления приводит к значимому нарушению продукции гормонов, контролирующих ответ организма на стресс и определяющих интенсивность старения [22], в частности в гипоталамусе. Хронический стресс, как и антигенную нагрузку, рассматривают в качестве триггеров воспаления, ускоряющих старение клеток. Результат действия обоих факторов — это формирование двухцепочечных разрывов ДНК, которые представляют собой серьезный вид нарушения структурной целостности хроматина и приводят к остановке клеточного цикла и запуску ферментов репарации [23]. Аналогичные повреждения ДНК были недавно зарегистрированы при физиологической нейрональной активности даже в молодом мозге, их число увеличивается при амилоидной нейродегенерации, а направленная коррекция таких повреждений открывает новые возможности для фармакотерапии нейродегенеративных заболеваний [24].

Подавление транскрипции и удаление активных РНК-полимераз из участков поломки генома необходимо для их полноценной репарации [23]. К активным участникам процессов восстановления двухцепочечных разрывов ДНК относят транскрипционный фактор NF- $\kappa$ B, активируемый в клетках при воспалении или при действии индукторов иммунного ответа [6], а также белки HMGB 1 (high mobility group box 1), которые обеспечивают реализацию механизма NHEJ (негомологичное соединение концов нитей ДНК при повреждении) за счет облегчения процессов лигирования, взаимодействуют с p53, выполняют роль «сенсоров» повреждения ДНК, а также контролируют эпигенетические процессы, регулируя ацетилирование гистоновых белков при повреждении ДНК [25]. Старение головного мозга сопровождается сокращением экспрессии HMGB 1 в нейронах, но не астроцитах, в которых регистрируют увеличение его экспрессии, при этом число двухцепочечных разрывов ДНК увеличивается именно в клетках нейрональной природы. При реализации феномена эксайтотоксичности гиперактивация NMDA-рецепторов приводит к передислокации HMGB 1 из ядра в цитозоль, что сопровождается индукцией механизма аутофагии [26]. Высвобождению из клеток HMGB 1 способствует нарушение процесса деацетилирования гистонов [27], что предполагает участие НАД<sup>+</sup>-зависимых гистоновых деацетилаз (HDAC) в регуляции процесса высвобождения HMGB 1 из клеток. С учетом известной роли HDAC в регуляции процессов репарации ДНК, регуляции транскрипции, контроле захвата глюкозы клетками [28] и в процессах старения их регулирующая функция в отношении высвобождения HMGB1 при воспалении может быть дополнительным связующим звеном между указанными событиями.

Секреция HMGB 1 носит p53-зависимый характер, причем нарушение высвобождения окисленной формы HMGB 1 из стареющих клеток вызывает p53-опосредованный арест клеточного цикла [29]. Интересно, что применение ингибиторов HDAC вызывает в клетках нейрональной природы сохранение высокого уровня ацетилирования p53 и предотвращает апоптоз, инициируемый повреждением ДНК [24].

HMGB 1 высвобождаются из поврежденных клеток (в т.ч. за счет механизма формирования экзосом, мембранных микровезикул или при разрушении мембраны) или секретируются из клеток, не имеющих признаков повреждения, например ABC 1-зависимым механизмом или инфламмасомами. Интересно, что в клетках макрофагальной природы подавление экспрессии ABC 1-транспортера (осуществляющего транспорт холестерина во внеклеточное пространство) опосредуется одним из провоспалительных цитокинов — ИФН  $\gamma$ . Кроме того, активность ABC 1 регулирует уровень включения холестерина в состав мембранных рафт и тем самым регулирует процессы кластеризации клеточных рецепторов и оптимизации передачи сигнальной информации в клетках. Подавление механизма ABC 1-зависимого транспорта холестерина характерно для стареющих клеток, что может способствовать значительному изменению активности клеточных сигнальных путей, например Rac1 [30]. Клетки нейрональной и глиальной природы экспрессируют ABC 1, причем астроциты используют ABC 1 для контроля метаболизма ApoE, а  $\beta$ -амилоид подавляет экспрессию ABC 1 на астроцитах *in vitro* [31].

К другому механизму высвобождения HMGB 1 из клеток относят активность инфламмасом — мультибелковых комплексов, сборка которых в клетках происходит при действии на них DAMPs или PAMPs, активирующих TLRs или NLRs, а активность приводит к каспаза-1-зависимому процессингу указанных проинтерлейкинов и высвобождению их во внеклеточное пространство [3]. Установлено, что в астроцитах происходит экспрессия NLRP 1, 2 и 3, в нейронах — NLRP 1 и 3, в микроглии — NLRP 3 [27]. NLRP 2 инфламмасомы астроцитов ассоциированы с рецепторами P2X7 и паннексином-1, следовательно, на регуляцию их активности в первую очередь оказывают влияние концентрации внеклеточной АТФ и ионов калия, высвобождаемых из поврежденных клеток или за счет активности коннексиновых или паннексиновых каналов [32].

Инфламмасомы обеспечивают высвобождение HMGB 1 из клеток различной природы. Этот механизм находится под контролем РНК-активируемой протеинкиназы R (PKR) [33] — внутриклеточного сенсора двухцепочечных РНК — и запускается в клетках при стимуляции TLR3. PKR стимулирует образование инфламмасом (NLRP 1, NLRP 3), что приводит к секреции ИЛ  $1\beta$ , 18, 33, а также HMGB 1 [34]. В астроцитах PKR стимулирует экспрессию NO-синтазы при нейровоспалении. Ингибирование этого фермента эффективно для подавления активности нейровоспаления, в т.ч. при нейродегенерации альцгеймеровского типа [35]. Экспрессия NLRP 1 инфламмасом в гиппокампе ассоциирована с развитием когнитивного дефицита, а гиперэкспрессия NLRP 3 в миндалине головного мозга сопровождает развитие экспериментальной депрессии [36] (рис. 1).

Во внеклеточном пространстве белки HMGB 1 выполняют функцию DAMPs, индуцируя механизмы врожденного типа иммунного ответа (через активацию цитозольных ДНК-рецепторов, TLR или NLR) в клетках-мишенях [37], что приводит к секреции ими провоспалительных цитокинов. Тромбомодулин секвестрирует HMGB 1 и предотвращает их провоспалительный эффект [38].

Рецепторы для белков HMGB 1 — белки RAGE (receptor for advanced glycation end products), активность которых раньше ассоциировали исключительно с лигандированием продуктов гликозилирования белков. Позднее было установлено, что активация RAGE происходит в клетках при действии широкого спектра лигандов (s100B, s100A, липополисахарид,  $\beta$ -амилоид, Mac-1 — CD11b/CD18, фосфатидилсерин, HMGB 1), часть из которых — общая для RAGE и TLR (в частности, HMGB 1) [39]. Экспрессия этих белков максимальна во время периода эмбрионального развития, снижается в последующие периоды онтогенеза, но может быть индуцирована при аккумуляции во внеклеточном пространстве соответствующих лигандов [40]. Основным сигнальным механизмом, связанным с активацией RAGE рецепторов,

20



Секреция провоспалительных цитокинов, репарация ДНК, регуляция транскрипции и захвата глюкозы клетками, когнитивный дефицит, нейродегенерация

Рис. 1. Роль HMGB 1 при воспалении и старении

включает в себя NF-κB и находящиеся под его контролем разнообразные внутриклеточные события, например NF-κB-зависимое увеличение экспрессии RAGE в этих же клетках.

В настоящее время участие RAGE в патогенезе воспаления не вызывает сомнений, накоплены данные о роли этих белков в механизмах клеточного старения. Экспрессия RAGE и P2X7 в клетках увеличивается под действием гипоксия-индуцибельного фактора (HIF-1α). Например, это происходит в нейронах после перенесенного эпизода гипоксии/ишемии головного мозга. Интересно отметить, что HIF-1α опосредует механизм предотвращения так называемого онкогениндуцированного старения [41], но может быть вовлечен в механизм НАД<sup>+</sup>-зависимого механизма старения, включающего в себя снижение уровня внутриклеточного НАД<sup>+</sup> вследствие гиперактивации полиАДФР-полимеразы, необходимой для репарации ДНК, снижение активности НАД<sup>+</sup>-зависимых деацетилаз и стабилизацию HIF-1α в клетках, что приводит к митохондриальной дисфункции и окислительному стрессу [42].

Помимо RAGE, рецепторную функцию для HMGB 1 может выполнять микроглиальный комплекс CD 11b/CD 18 (Mac-1), активность которого под действием HMGB 1 приводит к стимуляции NF-κB-зависимого механизма активации НАДФН-оксидазы клетками микроглии [43]. Интересно, что этот же белковый комплекс в иммунокомпетентных клетках выполняет функцию рецептора C 3b компонента комплемента и двухцепочечной РНК [44], запускающей активность провоспалительного каскада в клетках-мишенях, а структурно и функционально он связан с CD 157, обладающим НАД<sup>+</sup>-гликогидролазной активностью, в т.ч. в клетках микроглиальной природы при хронической нейродегенерации [45].

В центральной нервной системе высвобождающиеся из астроцитов HMGB 1 белки инициируют процессы ремоделирования эндотелиальных клеток в пределах нейроваскулярной единицы головного мозга, способствуя восстановлению после ишемического повреждения, обеспечивают адгезию эндотелиальных прогениторных клеток к эндотелию в составе нейроваскулярной единицы, стимулируют репаративный нейрогенез [46], способствуют активации микроглии. HMGB 1 нейронов участвуют в развитии нейровоспаления после перенесенного субарахноидального кровотечения [47]. Высвобождение HMGB 1 из клеток микроглии приводит к развитию нейропатической боли, индуцирует апоптоз нейронов при хронической нейродегенерации, участвует в патогенезе ишемического повреждения головного мозга и аутоиммунного воспаления [48].

Важная функция HMGB 1 — это стимуляция секреции провоспалительных цитокинов стареющими клетками, что может быть осуществлено как HMGB 1 самостоятельно, так и в комплексе с ДНК, если высвобождение HMGB 1 произошло из разрушенных клеток или путем экзоцитоза [25].

### Секреторный фенотип стареющих клеток

Один из важных проявлений фенотипа, присущего стареющим клеткам, — SASP (senescence-associated secretory phenotype), подразумевающий активную секреторную активность стареющих клеток по высвобождению широкого спектра (более 40) провоспалительных цитокинов, в числе которых ИЛ 6, ИЛ 1, ИЛ 8, хемокины, факторы роста (в т.ч. проангиогенного характера), протеазы

(например, матриксные металлопротеиназы, модифицирующие внеклеточный матрикс, активаторы тканевого плазминогена). Разнообразные факторы, инициирующие стресс-ответ клетки и ее старение (дисфункция теломер, повреждения ДНК, активация онкогенов и пр.), имеют своим результатом приобретение клетками способности продуцировать цитокины, формирующие микроокружение для этих клеток и существенно модифицирующие их коммуникацию с другими клетками [29].

Осуществление индукции SASP происходит посредством вовлечения сигнальных путей, ассоциированных с развитием прооксидантного статуса и активированного транскрипционного фактора NF-κB или сопряженных молекул, в частности RIG-I (retinoic acid-inducible gene-1) и p38 MAPK (p38 mitogen-activated protein kinase) [49], а также разнообразных регуляторных miRNA [50]. RIG-I рецепторы выполняют функцию сенсоров РНК при реализации иммунного ответа врожденного типа: в частности, в головном мозге активность этих белков необходима для развития реактивного астроглиоза [51]. p38 MAPK — участник механизмов иммунного воспаления [52], в т.ч. нейровоспаления [34]. Специфическое подавление экспрессии RIG-I и p38 MAPK тормозит процессы старения и ассоциированной продукции провоспалительных цитокинов в клетках различной природы, но может оказывать как нейропротективный эффект, так и способствовать интенсификации воспаления [53] (рис. 2).

Клетки, имеющие двухцепочечные разрывы ДНК (не транзиторного, а постоянного характера), приобретают способность активно секретировать цитокины (например, ИЛ 6), формируя тем самым провоспалительное микроокружение. Присутствие ИЛ 6 во внеклеточном пространстве дополнительно усиливают репаративную активность в клетках, несущих повреждения ДНК. Аналогичным образом другие провоспалительные цитокины

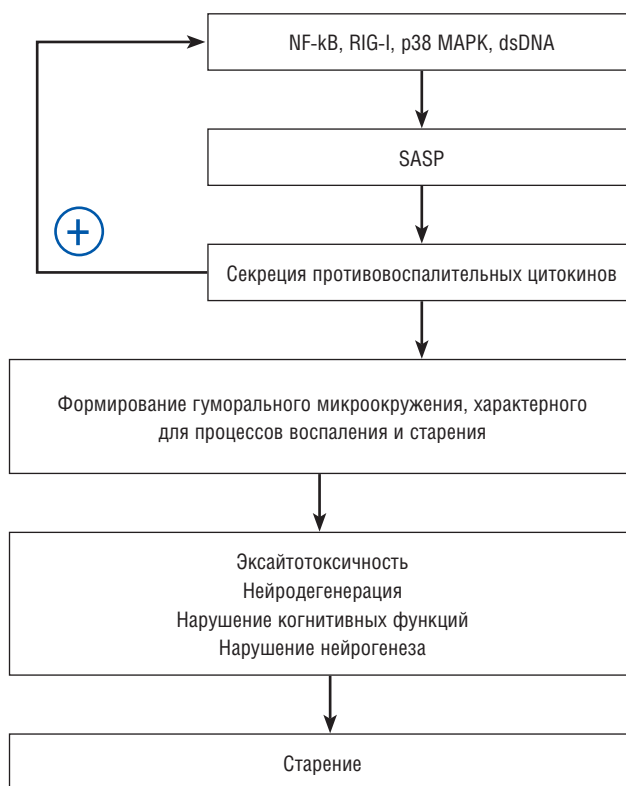


Рис. 2. Индукция фенотипа стареющих клеток (SASP)

(ИЛ 1 $\beta$  и 18) могут стимулировать процессы репарации ДНК за счет MyD88-опосредованного сигнального механизма, утилизируемого и TLRs врожденного иммунитета (кроме TLR 3), экспрессируемые клетками нейрональной и глиальной природы [54].

В свою очередь, ИЛ 1 $\beta$  и ИЛ 18 — это продукты функциональной активности инфламмасом. Таким образом, в контексте межклеточных взаимодействий (нейрон-астроглиальных или астроглия-микроглиальных) при развитии нейровоспаления существует последовательная активация инфламмасом во взаимодействующих клетках, приводящая к секреции HMGB 1 и выделению цитокинов в клетках-мишенях действия HMGB 1 (макрофаги, моноциты, дендритные клетки). Наличие такого координированного механизма экспрессии инфламмасом при нейровоспалении подразумевает возможность использования белков — компонентов инфламмасом в качестве молекул-мишеней для терапии нейровоспаления [51].

Насколько актуально формирование SASP в центральной нервной системе? Согласно некоторым данным [55], астроциты демонстрируют признаки SASP в стареющем мозге, секретируя провоспалительные цитокины (ИЛ 1, ИЛ 6), хемокины, протеазы, оксид азота и HMGB 1. Вероятнее всего, формирование SASP в астроцитах способно компрометировать те процессы, в которых астроциты играют важную роль (нейрон-астроглиальное метаболическое сопряжение, глиоваскулярный контроль, контроль структурно-функциональной целостности гемато-энцефалического барьера, регуляция нейрогенеза).

Провоспалительные цитокины (ИЛ 1 $\beta$ , ИЛ 6, ФНО  $\alpha$ , ИФН  $\gamma$ ) стимулируют захват глюкозы астроцитами *in vitro*, в то время как противовоспалительные цитокины подавляют его. Известно, что важный компонент функциональной активности астроцитов — это формирование нейрон-астроглиального метаболического сопряжения, обеспечивающего энергетические потребности активированных нейронов за счет транспорта и утилизации глутамата, глюкозы и лактата [56]. Метаболизм глюкозы в астроцитах приводит к образованию лактата, захватываемого нейронами, использующими его в качестве энергетического субстрата [57], нарушение этого процесса способствует гибели нейронов, в частности, при гиперактивации NMDA-рецепторов, хотя существуют данные, оспаривающие значимость этого механизма [58]. Этот же механизм необходим для реализации процессов, сопряженных с активным нейрогенезом или реактивным астроглиозом. Известно, что реактивные астроциты изменяют характер утилизации глюкозы, что необходимо для приобретения ими соответствующего фенотипа и экспрессии белков, регулирующих их пролиферативный потенциал [59].

В литературе имеются данные о роли хронического воспаления в патогенезе инсулинорезистентности, изменения чувствительности рецепторов врожденного иммунитета и формирования инфламмасом [60]. Само понятие «метаболично-когнитивный синдром», связывающее развитие метаболического синдрома с когнитивной дисфункцией в патогенезе нейродегенерации, изначально было предложено для обозначения нарушений при болезни Альцгеймера, но в последующем распространено и на другие виды нейродегенерации. Болезнь Альцгеймера — классический пример патологии, при которой нейровоспаление и нейродегенерация патогенетически связаны с развитием инсулинорезистентности в ткани мозга, однако, например, нарушение толерантности к глюкозе было зарегистрировано примерно у половины пациентов с болезнью Паркинсона [61]. Сопряжение метаболических и когнитивных нарушений

возможно на основе понимания механизмов формирования и реализации функциональной активности инфламмасом [62]. Аккумуляция рибозилированных белков способствует увеличению экспрессии RAGE-рецепторов на астроцитах, что соответствует развитию когнитивного дефицита у пациентов с сахарным диабетом [63]. Дисрегуляция глюкозных транспортеров GLUT 4 и GLUT 8, преимущественно в гиппокампе и миндалине головного мозга, характерна для нейровоспаления. HMGB 1 белки предложены в качестве биомаркеров метаболического синдрома, сопровождающегося развитием инсулинорезистентности [64]. Реализация TLR4-зависимого механизма врожденного иммунитета способствует проявлению инсулинорезистентности. Более того, инсулин все чаще рассматривают в качестве гормона с противовоспалительной активностью [65], что открывает новые подходы к интерпретации процессов, лежащих в основе формирования инсулинорезистентности при старении или нейровоспалении.

Таким образом, одним из возможных результатов хронического увеличения концентраций провоспалительных цитокинов во внеклеточном пространстве в стареющем мозге может быть формирование локального микроокружения, максимально способствующего проявлению тех или иных свойств клеток, регулируемых цитокинами: например, способности утилизировать глюкозу или проявлять прорегенеративный потенциал, характерный для цитокинактивированных астроцитов. Установлено, что p38 MAPK-контролируемые механизмы секреции провоспалительных цитокинов в астроцитах, характерные для SASP, регистрируют при болезни Альцгеймера [66]. Однако необходимы дополнительные исследования, которые позволят выявить критерии и механизмы, дифференцирующие цитокинпродуцирующую активность астроцитов при реализации иммунного ответа и таковую при формировании SASP.

Возрастзависимые изменения в экспрессии генов в астроцитах во многом определены нейрон-астроглиальными взаимодействиями [67]. Секреция цитокинов в головном мозге может существенно модифицироваться под действием внешних факторов, в частности обогащенной среды, подразумевающей влияние комплекса социальных и несоциальных стимулов, приводящего к стимуляции нейрогенеза, улучшению когнитивных функций и предотвращающего прогрессирующее нейродегенерации [68]. Нарушение продукции и биологических эффектов ИЛ 1 в головном мозге (в т.ч. обеспечение процессов запоминания) успешно компенсируется действием обогащенной многостимульной среды, вызывающей увеличение продукции нейротрофических факторов, стимулирующих нейрогенез. Однако недавно было показано, что пребывание в условиях обогащенной среды соответствует действию стрессорных факторов, имеющих своим результатом изменение экспрессии рецепторов ИЛ 6 в гиппокампе [69], что приводит к повышению агрессивности. Таким образом, зарегистрированные ранее поведенческие изменения при действии обогащенной среды могут быть следствием неоднозначных эффектов многостимульной среды на активность глиальных клеток, регулирующих реакции локального воспаления и секреции провоспалительных медиаторов, что дополнительно определяется действием многостимульной среды на здоровый или поврежденный мозг или в разные периоды онтогенеза [68].

Расшифровка клеточных молекулярных механизмов, сопрягающих нейровоспаление и старение клеток, может дать начало новым терапевтическим стратегиям,

актуальным для лечения широкого спектра заболеваний центральной нервной системы (ишемия головного мозга, нейродегенерация, нарушения развития головного мозга) и разработки новых экспериментальных моделей заболеваний центральной нервной системы.

**Конфликт интересов**

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ РФ (НШ-1172.2014.7).

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Hayward J.H., Lee S.J. A decade of research on TLR2 discovering its pivotal role in glial activation and neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Exp. Neurobiol.* 2014; 23 (2): 138–147.
2. Walker A.K., Kavelaars A., Heijnen C.J., Dantzer R. Neuroinflammation and comorbidity of pain and depression. *Pharmacol Rev.* 2013; 66 (1): 80–101.
3. Lasselin J., Capuron L. Chronic low-grade inflammation in metabolic disorders: relevance for behavioral symptoms. *Neuroimmunomodulation.* 2014; 21 (2–3): 95–101.
4. Baylis D., Bartlett D.B., Patel H.P., Roberts H.C. Understanding how we age: insights into inflammaging. *Longev. Healthspan.* 2013; 2 (1): 8.
5. Streit W.J., Xue Q.S., Braak H., del Tredici K. Presence of severe neuroinflammation does not intensify neurofibrillary degeneration in human brain. *Glia.* 2014; 62 (1): 96–105.
6. Volcic M., Karl S., Baumann B., Salles D., Daniel P., Fulda S., Wiesmüller L. NF- $\kappa$ B regulates DNA double strand break repair in conjunction with BRCA1-CtIP complexes. *Nucleic Acids Res.* 2012; 40 (1): 181–195.
7. Chiang J.J., Eisenberger N.I., Seeman T.E., Taylor S.E. Negative and competitive social interactions are related to heightened proinflammatory cytokine activity. *Proc. Natl Acad Sci USA.* 2012; 109 (6): 1878–1882.
8. Heneka M.T., Kummer M.P., Latz E. Innate immune activation in neurodegenerative disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2014; 14 (7): 463–477.
9. Sofroniew M.V. Multiple roles for astrocytes as effectors of cytokines and inflammatory mediators. *Neuroscientist.* 2014; 20 (2): 160–172.
10. Rubini P., Pagel G., Mehri S., Marquardt P., Riedel T., Illes P. Functional P2X7 receptors at cultured hippocampal astrocytes but not neurons. *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 2014; 387 (10): 943–954.
11. Barbierato M., Facci L., Argentini C., Marinelli C., Skaper S.D., Giusti P. Astrocyte-microglia cooperation in the expression of a pro inflammatory phenotype. *CNS Neurol. Disord. Drug. Targets.* 2013; 12 (5): 608–618.
12. Lee H.G., Won S.M., Gwag B.J., Lee Y.B. Microglial P2X<sub>7</sub> receptor expression is accompanied by neuronal damage in the cerebral cortex of the APP<sup>sw</sup>/PS1<sup>de9</sup> mouse model of Alzheimer's disease. *Exp. Mol. Med.* 2011; 43 (1): 7–14.
13. Chen G., Park C.K., Xie R.G., Berta T., Nedergaard M., Ji R.R. Connexin-43 induces chemokine release from spinal cord astrocytes to maintain late phase neuropathic pain in mice. *Brain.* 2014; 138 (8): 2193–2209.
14. Ma L., Li X.W., Zhang S.J., Yang F., Zhu G.M., Yuan X.B., Jiang W. Interleukin-1 beta guides the migration of cortical neurons. *J. Neuroinflamm.* 2014; 11: 114.
15. Yoshida T., Shiroshima T., Lee S.J., Yasumura M., Uemura T., Chen X., Iwakura Y., Mishina M. Interleukin-1 receptor accessory protein organizes neuronal synaptogenesis as a cell adhesion molecule. *J. Neurosci.* 2012; 32 (8): 2588–2600.
16. Ota Y., Zanetti A.T., Hallock R.M. The role of astrocytes in the regulation of synaptic plasticity and memory formation. *Neural Plast.* 2013; 2013: 185463.
17. Jurk D., Wilson C., Passos J.F., Oakley F., Correia-Melo C., Greaves L., Saretzki G., Fox C., Lawless C., Anderson R., Hewitt G., Pender S.L., Fullard N., Nelson G., Mann J., van de Sluis B., Mann D.A., von Zglinicki T. Chronic inflammation induces telomere dysfunction and accelerates ageing in mice. *Nat. Commun.* 2014; 2: 4172.
18. Wikgren M., Karlsson T., Lind J., Nilbrink T., Hultdin J., Slegers K., Van Broeckhoven C., Roos G., Nilsson L.G., Nyberg L., Adolfsson R., Norrback K.F. Longer leukocyte telomere length is associated with smaller hippocampal volume among non-demented APOE  $\epsilon$ 3/ $\epsilon$ 3 subjects. *PLoS One.* 2012; 7 (4): 34292.
19. Ma S.L., Lau E.S., Suen E.W., Lam L.C., Leung P.C., Woo J., Tang N.L. Telomere length and cognitive function in southern Chinese community dwelling male elders. *Age Ageing.* 2013; 42 (4): 450–455.
20. Ojeda D., López-Costa J.J., Sede M., López E.M., Berria M.I., Quarleri J. Increased *in vitro* glial fibrillary acidic protein expression, telomerase activity, and telomere length after productive human immunodeficiency virus-1 infection in murine astrocytes. *J. Neurosci Res.* 2014; 92 (2): 267–274.
21. Szebeni A., Szebeni K., DiPeri T., Chandley M.J., Crawford J.D., Stockmeier C.A., Ordway G.A. Shortened telomere length in white matter oligodendrocytes in major depression: potential role of oxidative stress. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2014; 17 (10): 1569–1578.
22. Zhang G., Li J., Purkayastha S., Tang Y., Zhang H., Yin Y., Li B., Liu G., Cai D. Hypothalamic programming of systemic ageing involving IKK- $\beta$ , NF- $\kappa$ B and GnRH. *Nature.* 2013; 497 (7448): 211–216.
23. Polo S.E., Jackson S.P. Dynamics of DNA damage response proteins at DNA breaks: a focus on protein modifications. *Genes. Dev.* 2011; 25 (5): 409–433.
24. Brochier C., Dennis G., Riviello M.A., McLaughlin K., Coppola G., Ratan R.R., Langley B. Specific acetylation of p53 by HDAC inhibition prevents DNA damage induced apoptosis in neurons. *J. Neurosci.* 2013; 33 (20): 8621–8632.
25. Liu L., Yang M., Kang R., Dai Y., Yu Y., Gao F., Wang H., Sun X., Li X., Li J., Wang H., Cao L., Tang D. HMGB1-DNA complex induced autophagy limits AIM2 inflammasome activation through RAGE. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014; 18; 450 (1): 851–856.
26. Pérez-Carrión M.D., Ceña V. Pharm Res. Knocking down HMGB1 using dendrimer-delivered siRNA unveils its key role in NMDA induced autophagy in rat cortical neurons. *Pharm. Res.* 2013; 30 (10): 2584–2595.
27. Zou J.Y., Crews F.T. Release of neuronal HMGB1 by Ethanol through decreased HDAC activity activates brain neuroimmune signaling. *PLoS One.* 2014; 9 (2): 87915.
28. Schroeder F.A., Chonde D.B., Riley M.M., Moseley C.K., Granda M.L., Wilson C.M., Wagner F.F., Zhang Y.L., Gale J., Holson E.B., Haggarty S.J., Hooker J.M. FDG-PET imaging reveals local brain glucose utilization is altered by class I histone deacetylase inhibitors. *Neurosci Lett.* 2013; 550: 119–124.
29. Davalos A.R., Kawahara M., Malhotra G.K., Schaum N., Huang J., Ved U., Beausejour C.M., Coppe J.P., Rodier F., Campisi J. P53-dependent release of Alarmin HMGB1 is a central mediator of senescent phenotypes. *J. Cell. Biol.* 2013; 201 (4): 613–629.
30. Pagler T.A., Wang M., Mondal M., Murphy A.J., Westerterp M., Moore K.J., Maxfield F.R., Tall A.R. Deletion of ABCA1 and ABCG1 impairs macrophage migration because of increased Rac1 signaling. *Circ. Res.* 2011; 108 (2): 194–200.

31. Canepa E., Borghi R., Viña J., Traverso N., Gambini J., Domenicotti C., Marinari U.M., Poli G., Pronzato M.A., Ricciarelli R. Cholesterol and amyloid- $\beta$ : evidence for a cross-talk between astrocytes and neuronal cells. *J. Alzheimers Dis.* 2011; 25 (4): 645–653.
32. Salmina A.B., Morgun A.V., Kuvacheva N.V., Lopatina O.L., Komleva Y.K., Malinovskaya N.A., Pozhilenkova E.A. Establishment of neurogenic microenvironment in the neurovascular unit: the connexin 43 story. *Rev. Neurosci.* 2014; 25 (1): 97–111.
33. Li W., Li J., Sama A.E., Wang H. Carbenoxolone blocks endotoxin-induced protein kinase R (PKR) activation and high mobility group box 1 (HMGB1) release. *Mol. Med.* 2013; 19: 203–211.
34. Kang S.M., More S.V., Park J.Y., Kim B.W., In P.J., Yoon S.H., Choi D.K. A novel synthetic HTB derivative, BECT inhibits lipopolysaccharide mediated inflammatory response by suppressing the p38 MAPK/JNK and NF- $\kappa$ B activation pathways. *Pharmacol. Rep.* 2014; 66 (3): 471–479.
35. Couturier J., Paccalin M., Morel M., Terro F., Milin S., Pontcharraud R., Fauconneau B., Page G. Prevention of the  $\beta$ -amyloid peptide induced inflammatory process by inhibition of double stranded RNA dependent protein kinase in primary murine mixed co cultures. *J. Neuroinflammation.* 2011; 8: 72.
36. Язуина Н.А. Тревожно-депрессивные расстройства и инсулинорезистентность: клинико-патогенетические параллели. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. *Красноярск.* 2013. 26 с.
37. Nakamura T., Ito T., Igarashi H., Uchida M., Hijioka M., Oono T., Fujimori N., Niina Y., Suzuki K., Jensen R.T., Takayanagi R. Cytosolic double stranded DNA as a damage associated molecular pattern induces the inflammatory response in rat pancreatic stellate cells: a plausible mechanism for tissue injury associated pancreatitis. *Int. J. Inflamm.* 2012; 2012: 504128.
38. Rauvala H., Rouhiainen A. Physiological and pathophysiological outcomes of the interactions of HMGB1 with cell surface receptors. *Biochim. Biophys. Acta.* 2010; 1799 (1–2): 164–170.
39. Ibrahim Z.A., Armour C.L., Phipps S., Sukkar M.B. RAGE and TLRs: relatives, friends or neighbours? *Mol. Immunol.* 2013; 56 (4): 739–744.
40. Chuah Y.K., Basir R., Talib H., Tie T.H., Nordin N. Receptor for advanced glycation end products and its involvement in inflammatory diseases. *Int. J. Inflamm.* 2013; 2013: 403460.
41. Kilic Eren M., Tabor V. The role of hypoxia inducible factor-1 alpha in bypassing oncogene induced senescence. *PLoS One.* 2014; 9 (7): 101064.
- Mendelsohn A.R., Larrick J.W. Partial reversal of skeletal muscle aging by restoration of normal NAD<sup>+</sup> levels. *Rejuvenation Res.* 2014; 17 (1): 62–69.
42. Gao H.M., Zhou H., Zhang F., Wilson B.C., Kam W., Hong J.S. HMGB1 acts on microglia Mac1 to mediate chronic neuroinflammation that drives progressive neurodegeneration. *J. Neurosci.* 2011; 31 (3): 1081–1092.
43. Zhou H., Liao J., Aloor J., Nie H., Wilson B.C., Fessler M.B., Gao H.M., Hong J.S. CD11b/CD18 (Mac-1) is a novel surface receptor for extracellular double-stranded RNA to mediate cellular inflammatory responses. *J. Immunol.* 2013; 190 (1): 115–125.
44. Малиновская Н.А. Роль НАД<sup>+</sup>-зависимых механизмов в регуляции нейрон-глиальных взаимодействий при ишемии головного мозга и нейродегенерации. Автореф. дис... докт. мед. наук. *Кемерово.* 2014. 41 с.
45. Hayakawa K., Pham L.D., Arai K., Lo E.H. Reactive astrocytes promote adhesive interactions between brain endothelium and endothelial progenitor cells via HMGB1 and beta-2 integrin signaling. *Stem. Cell. Res.* 2014; 12 (2): 531–538.
46. Sun Q., Wu W., Hu Y.C., Li H., Zhang D., Li S., Li W., Li W.D., Ma B., Zhu J.H., Zhou M.L., Hang C.H. Early release of high mobility group box 1 (HMGB1) from neurons in experimental subarachnoid hemorrhage *in vivo* and *in vitro*. *J. Neuroinflam.* 2014; 11 (1): 106.
47. Shin J.H., Lee H.K., Lee H.B., Jin Y., Lee J.K. Ethyl pyruvate inhibits HMGB1 phosphorylation and secretion in activated microglia and in the postischemic brain. *Neurosci. Lett.* 2014; 558: 159–163.
48. Салмина А.Б., Инжутова А.И., Моргунов А.В., Окунева О.С., Малиновская Н.А., Лопатина О.Л., Петрова М.М., Таранушенко Т.Е., Фурсов А.А., Кувачева Н.В. НАД<sup>+</sup>-конвертирующие ферменты в клетках нейрональной и глиальной природы: CD38 как новая молекула-мишень для нейропротекции. *Вестник РАМН.* 2012; 10: 29–37.
49. Feliciano A., Sánchez-Sendra B., Kondoh H., Leonart M.E. MicroRNAs Regulate Key Effector Pathways of Senescence. *J. Aging. Res.* 2011; 2011: 205378.
50. de Rivero Vaccari J. P., Dietrich W. D., Keane R. W. Activation and regulation of cellular inflammasomes: gaps in our knowledge for central nervous system injury. *J. Cereb. Blood Flow & Metabolism.* 2014; 34: 369–375.
51. Yang Y., Kim S.C., Yu T., Yi Y.S., Rhee M.H., Sung G.H., Yoo B.C., Cho J.Y. Functional roles of p38 mitogen-activated protein kinase in macrophage-mediated inflammatory responses. *Mediators Inflamm.* 2014; 2014: 352371.
52. Xing B., Bachstetter A.D., Van Eldik L.J. Inhibition of Neuronal p38 $\alpha$ , but not p38 $\beta$  MAPK, Provides Neuroprotection Against Three Different Neurotoxic Insults. *J. Mol. Neurosci.* 2014; 11: 172.
53. Kfoury A., Le Corf K., El Sabeh R., Journeaux A., Badran B., Hussein N., Lebecque S., Manié S., Renno T., Coste I. MyD88 in DNA repair and cancer cell resistance to genotoxic drugs. *J. Natl. Cancer. Inst.* 2013; 105 (13): 937–946.
54. Salminen A., Ojala J., Kaarniranta K., Haapasalo A., Hiltunen M., Soinen H. Astrocytes in the aging brain express characteristics of senescence associated secretory phenotype. *Eur. J. Neurosci.* 2011; 34 (1): 3–11.
55. Salmina A.B. Neuron-glia interactions as therapeutic targets in neurodegeneration. *J. Alzheimers. Dis.* 2009; 16 (3): 485–502.
56. Salmina A.B., Petrova M.M., Taranushenko T.E., Prokopenko S.V., Malinovskaya N.A., Okuneva O.S., Inzhutova A.I., Morgun A.V., Fursov A.A. Alteration of Neuron-Glia Interactions in Neurodegeneration. In: *Neurodegenerative Diseases Processes, Prevention, Protection and Monitoring.* 2011. P. 273–300.
57. Patel A.B., Lai J.C., Chowdhury G.M., Hyder F., Rothman D.L., Shulman R.G., Behar K.L. Direct evidence for activity dependent glucose phosphorylation in neurons with implications for the astrocyte to neuron lactate shuttle. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2014; 111(14): 5385–5390.
58. Zamanian J.L., Xu L., Foo L.C., Nouri N., Zhou L., Giffard R.G., Barres B.A. Genomic Analysis of Reactive Astroglia. *J. of Neurosci.* 2012; 32 (18): 6391–6410.
59. Esser N., Legrand-Poels S., Piette J., Scheen A.J., Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabet. Res. Clin. Pract.* 2014; 105 (2): 141–150.
60. Santiago J.A., Potashkin J.A. System based approaches to decode the molecular links in Parkinson's disease and diabetes. *Neurobiol. Dis.* 2014; 72: 84–91.
61. Choi J.S., Ryter S.W. Inflammasomes: molecular regulation and implications for metabolic and cognitive diseases. *Mol. Cells.* 2014; 37 (6): 441–448.
62. Han C., Lu Y., Wei Y., Wu B., Liu Y., He R. D-ribosylation induces cognitive impairment through RAGE dependent astrocytic inflammation. *Cell. Death. Dis.* 2014; 13 (5): 1117.
63. Arrigo T., Chirico V., Salpietro V., Munafò C., Ferraiù V., Gitto E., Lacquaniti A., Salpietro C. High mobility group protein B1: a new biomarker of metabolic syndrome in obese children. *Eur. J. Endocrinol.* 2013; 168 (4): 631–638.
64. Sun Q., Li J., Gao F. New insights into insulin: The anti-inflammatory effect and its clinical relevance. *World J. Diabetes.* 2014; 5 (2): 89–96.



65. Bhat R., Crowe E.P., Bitto A., Moh M., Katsetos C.D., Garcia F.U., Johnson F.B., Trojanowski J.Q., Sell C., Torres C. Astrocyte senescence as a component of Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2012; 7 (9): 45069.
66. Kremsky I., Morgan T. E., Hou X., Li L., Finch C. E. Age-changes in gene expression in primary mixed glia cultures from young vs. old rat cerebral cortex are modified by interactions with neurons. *Brain. Behav. Immun*. 2012; 26 (5): 797–802.
67. Комлева Ю.К., Салмина А.Б., Прокопенко С.В., Шестакова Л.А., Петрова М.М., Малиновская Н.А., Лопатина О.Л. Изменения структурно-функциональной пластичности головного мозга, индуцированные обогащенной средой. *Вестник РАМН*. 2013; 6: 39–48.
68. McQuaid R.J., Audet M.C., Jacobson-Pick S., Anisman H. Environmental enrichment influences brain cytokine variations elicited by social defeat in mice. *Psychoneuroendocrinology*. 2013; 38 (7): 987–996.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Салмина Алла Борисовна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, проректор по инновационному развитию и международной деятельности КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. П. Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 228-07-69, e-mail: allasalmina@mail.ru

**Комлева Юлия Константиновна**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. П. Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 228-07-69, e-mail: yuliakomleva@mail.ru

**Кувачева Наталья Валерьевна**, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. П. Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 228-07-69, e-mail: natalya.kuvacheva@gmail.com

**Лопатина Ольга Леонидовна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. П. Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 228-07-69, e-mail: ol.lopatina@gmail.com

**Пожиленкова Елена Анатольевна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. П. Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 220-06-28, e-mail: elena.a.pozhilenkova@gmail.com

**Горина Яна Валерьевна**, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. П. Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 220-06-28, e-mail: yana\_20@bk.ru

**Гасымлы Эльтадж Джамил кызы**, клинический ординатор кафедры нервных болезней, традиционной медицины с курсом последипломного образования КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. П. Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 220-06-28, e-mail: elya\_qasimli@mail.ru

**Панина Юлия Анатольевна**, аспирант кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. П. Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 220-06-28, e-mail: elving-girl@list.ru

**Моргун Андрей Васильевич**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры педиатрии ИПО КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. П. Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 220-06-28, e-mail: 441682@mail.ru

**Малиновская Наталия Александровна**, доктор медицинских наук, доцент кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, научный сотрудник НИИ молекулярной медицины и патофизиологии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. П. Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 228-07-69, e-mail: konsuelo81@mail.ru

В.Н. Сахаров, П.Ф. Литвицкий

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

## Роль различных фенотипов макрофагов в развитии заболеваний человека

*В исследованиях последних лет продемонстрировано, что макрофаги не только играют существенную роль в адаптивных процессах при многих заболеваниях человека, но также способны чрезмерно усиливать воспалительные эффекты. Их конкретные функции зависят от тканевого микроокружения, а следовательно, и от приобретаемого в этих условиях фенотипа. В настоящем обзоре литературы рассмотрены отдельные адаптивные (например, при развитии инфекционных и онкологических заболеваний), а также патогенные (при ряде заболеваний с воспалительным компонентом в их патогенезе) эффекты макрофагов различных фенотипов. Оценены перспективы управляемого перепрограммирования макрофагов.*

**Ключевые слова:** макрофаг, фенотип, перепрограммирование, воспаление.  
(Вестник РАМН. 2015; 1: 26–31)

### Введение

26

Доказан факт выполнения макрофагами различных фенотипов защитных функций в организме: например, уничтожение ими микроорганизмов и опухолевых клеток [1–3]. Наряду с этим макрофаги могут способствовать и неблагоприятному течению заболеваний: их хронизации, а нередко — фатальному для организма чрезмерному воспалительному ответу [4, 5].

Макрофаги фенотипа  $M_1$  являются эффекторными клетками, интегрированными в иммунный ответ Т-хелперов 1-го типа ( $T_{H1}$ ), способными разрушать микробы и клетки новообразований. Они же могут продуцировать избыточное количество провоспалительных цитокинов [1].

Макрофаги фенотипа  $M_2$ , ассоциированные с иммунным ответом Т-хелперов 2-го типа ( $T_{H2}$ ), напротив, ограничивают воспалительную реакцию. Макрофаги  $M_1$  и  $M_2$ -фенотипов часто присутствуют в тканях одновременно, отличаясь набором секретируемых ими медиаторов и маркеров. Интегративный эффект  $M_1$ - и  $M_2$ -макрофагов зависит от баланса активирующих и подавляющих их функции воздействий, а также от тканевого микроокружения [2].

### Адаптивные эффекты макрофагов при различных формах патологии

**Возбудители инфекции и опухоли.** Доказано, что выработка  $M_1$ -активированными макрофагами оксида азота способствует гибели *Mycobacteria*, а также многих других микроорганизмов. В то же время макрофаги  $M_2$ -фенотипа снижают эффективность бактерицидного эффекта в отношении *Mycobacteria* благодаря синтезу аргиназы-1 [2]. Моноциты человека, в отличие от таковых клеток мышей, не повышают аргиназную активность при активации  $M_2$ -макрофагов [3]. Кроме того, в  $M_1$ - и  $M_2$ -макрофагах различается регуляция процесса фагоцитоза при туберкулезной инфекции [2].

Существенно, что макрофаги различных фенотипов по-разному взаимодействуют с вирусом иммунодефицита человека. Так,  $M_1$ -активация предупреждает репликацию вируса преимущественно на преинтегративных стадиях, а активация макрофагов  $M_2$ -фенотипа — на постинтегративных [2].

Различается также и фагоцитарная способность  $M_1$ - и  $M_2$ -макрофагов. Известно, что по отношению к латексным шарикам и частицам зимозана фагоцитоз  $M_2$ -макрофагов более эффективен, чем макрофагов

V.N. Sakharov, P.F. Litvitsky

Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation

## Roles of Different Macrophage Phenotypes in the Pathogenesis of Some Human Diseases

*Macrophages have recently been shown to play a key role in promoting of recovery after some diseases as well as in aggravation of inflammatory responses, all the functions being resulted from microenvironmental conditions and therefore phenotypes acquired by macrophages in these conditions. In this article some protective functions of macrophages during infectious and oncologic diseases as well as pathogenic roles in a number of inflammatory diseases are reviewed. Much attention is devoted to opportunities of macrophage reprogramming.*

**Key words:** macrophage, phenotype, reprogramming, inflammation.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 26–31)

M<sub>1</sub>-фенотипа. В то же время фагоцитарная активность клеток M<sub>1</sub> по отношению к *Staphylococcus aureus* в лабораторных условиях существенно выше, чем M<sub>2</sub>, в связи с чем рекомендуется всегда учитывать природу фагоцитируемого агента. Подобная картина наблюдается и при оценке миграционной способности макрофагов [1].

Описана существенная роль M<sub>1</sub>-макрофагов в подавлении опухолевого роста, реализуемая через активацию их антибластомных механизмов. Кроме того, M<sub>1</sub>-макрофаги противодействуют опухоли-ассоциированным и M<sub>2</sub>-активированным макрофагам, миелоидным супрессорным и другим клеткам, снижающим эффективность противоопухолевого ответа организма и способствующим тем самым опухолевой прогрессии, метастазированию, неоангиогенезу и др. [4].

**Паразитарные болезни.** Макрофаги, активированные при гельминтозах интерлейкинами (ИЛ) 4 и 13, существенно модифицируют Т-клеточный ответ, регулируют процессы тканевого фиброобразования и формирования гигантских многоядерных клеток в гранулемах [5].

Существуют различные подтверждения важности присутствия в тканях альтернативно активированных макрофагов (AA-M) при гельминтных инфекциях. К примеру, в экспериментах показано, что при острой инфекции *Schistosoma mansoni* дефицит α-цепи рецептора к ИЛ 4 (IL-4Rα) приводит к ранней гибели животных. Это наблюдается как при тотальном дефиците IL-4Rα, так и при его отсутствии только на клетках миелоидного ряда. Тем не менее фиброобразование и развитие эозинофильных гранул при частичном отсутствии IL-4Rα сохраняется [5].

Немаловажное значение имеют также данные о снижении степени вовлечения в воспалительный процесс эозинофилов, а также эффективности репарации тканей в условиях деплеции макрофагов в модели инфицирования животных *Nippostrongylus brasiliensis*. Помимо этого, деплеция макрофагов на ранних стадиях инфекции, вызванной *N. brasiliensis*, приводит к усилению воспаления и кровотечения, которые обусловлены миграцией личинок через легочную ткань. Это демонстрирует роль макрофагов в репарации тканей при гельминтных инвазиях. Показана также особая роль участия в этом процессе именно T<sub>H2</sub>-иммунного ответа (с участием AA-M) [5].

Важно и то, что даже в условиях снижения выработки макрофагами, инфицированными *Leishmania major*, цитокинов и хемокинов привлечение моноцитов крови сохраняется. Известно, например, что тромбоциты выделяют тромбоцитарный ростовой фактор (PDGF), который активирует локальный синтез хемокина CCL2 [4].

Стоит также отметить, что, к примеру, дефекты рецепторов к известному M<sub>1</sub>-стимулу — интерферону (ИФН) γ могут повышать чувствительность животных к инфицированию различными паразитами (в т.ч. *S. mansoni* и *Schistosoma japonicum*) [2].

**Репарация тканей.** Данные о заживлении стерильных послеоперационных ран свидетельствуют о том, что этот процесс требует присутствия в них в первые сутки макрофагов, а также выработки маркеров альтернативной активации, зависимой от подключения α<sub>1</sub>-цепи рецептора к ИЛ 4 — IL-4Rα<sub>1</sub>. Показано также, что в последующем этот ответ затухает. При недостатке K<sub>g</sub>ppel-подобного фактора-4 (KLF4) нарушается альтернативная активация, что сопровождается расстройством заживления кожных повреждений [5]. В процесс репарации вовлечены и другие факторы, такие как ИЛ 10, трансформирующий фактор роста (ТФР) β<sub>1</sub>, однако, как они взаимодействуют с сигналами ИЛ 4 / ИЛ 13, пока остается неясным [5].

**Чувствительность клеток к инсулину.** Значительную роль в формировании инсулинорезистентности, сахарного диабета, метаболического синдрома играет воспалительный процесс. На модели мышей доказано, что при ожирении макрофаги белой жировой ткани переключают свой фенотип с альтернативного (AA-M) на классический (классически активированные макрофаги, CA-M). В последующем выявлено, что поддержание численности AA-M в белой жировой ткани зависит как от PPARγ (внутриклеточного γ-рецептора, активируемого факторами пролиферации пероксисом), так и от ИЛ 4 / ИЛ 13 — STAT6 сигнала (STAT6 — передатчик сигнала и активатор транскрипции). Этот сигнал генерируют, вероятно, эозинофилы жировой ткани. Дефицит эозинофилов и AA-M приводит к повышению инсулинорезистентности. Такой же эффект наблюдается при дефиците KLF4 [5].

Кроме того, в формировании инсулинорезистентности тканей важна роль различных адипокинов. К примеру, грелин, являющийся 28-м аминокислотным пептидом, в первую очередь связывают с реализацией механизма регуляции аппетита и метаболизма жиров. Однако грелин существенно модифицирует выработку цитокинов. Так, при инкубации макрофагов мыши с липополисахаридом (ЛПС) добавление грелина снижало продукцию макрофагами ИЛ 1β и фактора некроза опухоли (ФНО) α, одновременно способствуя выработке ИЛ 10. Таким образом, равновесие смещалось в сторону AA-M. Этот феномен объясняют угнетением передачи сигнала, инициированного ЛПС при активации отдельных субъединиц митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) [6].

**Переохлаждение организма.** Установлено, что воздействие низких температур на организм приводит к ИЛ 4-опосредованной альтернативной активации макрофагов жировой ткани, которые, вырабатывая норэпинефрин, способствуют термогенезу с участием белой и бурой жировой ткани. Таким образом, AA-M, наряду с нервной системой, участвуют в ответе на стрессовые воздействия [5].

### Патогенные эффекты макрофагов при различных заболеваниях

Имеется большое число заболеваний, при которых преобладание того или иного фенотипа макрофагов способствует их прогрессированию. Так, к примеру, описано, что одну из центральных ролей в инициации и развитии воспалительных реакций в легких играют альвеолярные макрофаги [1].

Продукты M<sub>1</sub>-макрофагов (ФНО α, ИЛ 18, 12 и 23) являются важными медиаторами развития хронических воспалительных и иммунных аутоагрессивных заболеваний, включая болезнь Крона, ревматоидный артрит, аутоиммунный гепатит и др. [4].

Макрофаги, альтернативно активированные иммунными комплексами (тип II активации), могут играть патогенную роль при висцеральных лейшманиозах. При них паразиты «окутываются» IgG, который стимулирует выработку макрофагами противовоспалительных факторов, таких как ИЛ 10, что способствует прогрессированию заболевания [3].

**Бронхиальная астма и другие аллергические болезни.** При этих формах патологии (так же, как и при ответе на инвазии паразитов) высокие уровни IgE, гиперпродукция слизи, повышенная сократимость гладких мышц зависят от ИЛ 4 / ИЛ 13 и STAT6-сигнальных путей. Роль указан-

ных интерлейкинов при аллергических болезнях сходна, но не идентична, т.к. ИЛ 13 действует в большей степени на гладкомышечные клетки и эпителий дыхательных путей, а не на форменные элементы крови. У STAT6-дефицитных мышей восстановление в эксперименте экспрессии STAT6 в эпителиальных клетках приводит к развитию заболевания. Однако у мышей, эпителиальные клетки дыхательных путей которых лишены рецептора IL-4R $\alpha$ , сохраняется гиперреактивность в ответ на ингаляционное воздействие аллергена. Это свидетельствует о воздействии ИЛ 13 и на другие мишени (в частности, на гладкие мышцы). В подтверждение этого факта мыши, у которых IL-4R $\alpha$  экспрессируется только гладкомышечными клетками, также демонстрируют развитие заболевания [5].

**Ожирение.** Метаболические расстройства, сопровождающие ожирение, характеризуются повышенным содержанием в сыворотке крови провоспалительных цитокинов (ИЛ 1, 6, 8 и 12, ФНО  $\alpha$ ), хемокинов (MCP-1, RANTES и MIP-1), белков острой фазы воспаления (С-реактивный белок, сывороточный амилоид А и ферритин), адипокинов, ассоциированных с инсулинорезистентностью факторов (резистин, ретинолсвязывающий белок-4), ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1), факторов с гипертензивным потенциалом (ангиотензиноген) и др.

При избыточной массе тела в жировой ткани обнаружено хронически активированное состояние макрофагов M<sub>1</sub> и повышение содержания продуцируемых ими ядерного фактора NF- $\kappa$ B и протеинкиназы JNK1 из суперсемейства MAPK [7]. Выделяют 3 вероятных механизма формирования инсулинорезистентности. Во-первых, структурное сходство между насыщенными жирными кислотами (факторами риска развития инсулинорезистентности) и бактериальными липидсодержащими компонентами (к примеру, ЛПС) позволяет насыщенным жирным кислотам активировать Toll-подобный рецептор к ЛПС TLR4, что способствует активации M<sub>1</sub>-макрофагов. Важность этого процесса подтверждается тем фактом, что у животных, лишенных TLR4, при гиперхолестериновой диете не развивается инсулинорезистентность. К тому же переход на диету, бедную ненасыщенными жирными кислотами, сопровождается блокадой способности олеиновой кислоты самостоятельно вызывать альтернативную активацию макрофагов. Во-вторых, накопление жиров при их избыточном поступлении в виде свободных жирных кислот (а не триглицеридов) активирует сигнальный путь, включающий JNK1 и приводящий к формированию состояния инсулинорезистентности. В-третьих, быстрое нарастание жировой массы за счет гипертрофии и гиперплазии клеток приводит к относительной недостаточности оксигенации их вплоть до развития некроза адипоцитов с классической активацией тканевых макрофагов. В сохранившихся же адипоцитах экспрессируется ген транскрипционного фактора, индуцированного гипоксией, HIF-1 $\alpha$ . Это также приводит к повышению выработки медиаторов, способствующих формированию инсулинорезистентности и ожирения. Таким образом, именно обусловленное пищевым рационом воспаление, а не только (и не столько) ожирение само по себе служит фактором риска развития инсулинорезистентности [7].

**Стеатогепатит.** Избыточное поступление жиров ведет к дистрофическим изменениям в печени. Гепатоциты накапливают жиры в виде свободных жирных кислот. Если этот процесс не прерывается, то заболевание прогрессирует: развивается неалкогольный стеатогепатит, который может трансформироваться в цирроз и даже в гепатоцел-

люлярную карциному. При этом в моделях с нарушенной альтернативной активацией макрофагов неалкогольный стеатогепатит носит более тяжелый характер [7].

**Ишемия тканей.** Клеточный ответ на ишемию и гипоксию контролируется группой пролилгидроксилаз (PHD) и транскрипционным фактором, индуцированным гипоксией, HIF1 [8]. При нарушении магистрального кровотока основную функцию берет на себя коллатеральная сеть сосудов. Однако, как правило, этого недостаточно, чтобы оптимально обеспечивать потребность тканей в кислороде и субстратах метаболизма. Эндотелиальные клетки начинают продуцировать эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF), который активирует продукцию хемокина MCP1 в эндотелии и/или гладкомышечных клетках. Это, в свою очередь, стимулирует миграцию моноцитов в повреждаемую ткань. В периартериальном пространстве макрофаги продуцируют ростовые факторы, которые повышают пролиферацию гладкомышечных клеток, а также способствуют разрушению протеазами межклеточного матрикса. На плазмолемме макрофагов появляется ангиопоэтиновый рецептор TIE2, который стимулирует ангиогенез как при физиологических, так и при патологических состояниях. Показано, что делеция гена *Egln1*, кодирующего синтез пролилгидроксилазы PHD2, способствует приобретению макрофагами фенотипа неоангиогенеза (M<sub>2</sub>-подобного фенотипа), характеризующегося повышенной экспрессией маннозного рецептора (MRC1/CD206) и TIE2. При этом активируется и NF- $\kappa$ B-путь, что в итоге выражается развитием коллатеральных микрососудов и устранением или снижением степени ишемии. Таким образом, формирование коллатерального кровотока в регионе ишемии основано на опосредованном ангиопоэтином угнетении пролилгидроксилазы PHD2 [9].

Имеется предположение, что, используя клеточные технологии, можно прицельно вводить в кровеносное русло TIE2-продуцирующие макрофаги (например, у пациентов с диабетическим поражением сосудов конечностей или при системном атеросклерозе) [9].

**Перитонит.** Существует большое число классификаций перитонита, начиная от особенностей вызвавшей его формы патологии (состояния) и заканчивая делением в зависимости от характера экссудата [10]. Важен тот факт, что летальность при распространенном перитоните составляет 25–40%, а при развитии полиорганной недостаточности достигает 70–80% [11].

Воспалительно-деструктивные заболевания характеризуются активацией цитокинового каскада в организме уже по мере прогрессирования локального процесса. Преодоление патогеном ограничительных барьеров брюшной полости может вызвать гиперергическую форму распространенного перитонита. В то же время при постравматическом перитоните нарушение целостности стенок желудка, кишечника или желчного пузыря происходит внезапно. При этом на фоне тяжелой сочетанной травмы в организме подавляются неспецифические адаптивные процессы иммуногенеза и воспаления [10]. Главная роль среди местных факторов резистентности принадлежит макрофагам, т.к. именно они имеют высокую способность к фагоцитозу, осуществляют процессинг и презентацию антигена иммунцитам для инициации антигензависимого звена иммунного ответа. Также препятствуют распространению возбудителя формирующиеся грануляционный вал, отложения фибрина и спаечный процесс [10].

Проникновение микроорганизмов в брюшинную полость при перитоните активирует выработку макрофа-

гами ФНО, который стимулирует высвобождение таких провоспалительных интерлейкинов, как ИЛ 1, 6, 8 и др. В свою очередь, ИЛ 1 способствует образованию  $T_{x1}$ , инициирующих пролиферацию Т лимфоцитов, секрецию ИЛ 2, а также усиление выработки ФНО, что может привести к потенцированию воспаления [10].

При обширных и тяжелых повреждениях тканей противовоспалительная реакция (создающая условия для пролиферации  $T_{x2}$ ) может стать неконтролируемой. Такое состояние, названное «иммунопаралич», проявляется отсутствием местной воспалительной реакции. Угнетение перистальтики кишечника при перитоните может привести к переполнению его петель, ишемии кишечной стенки, еще большему подавлению перистальтики и нарастающему эндотоксикозу. Источником токсинов служат очаги посттравматической и инфекционно-воспалительной деструкции тканей, экссудат и содержимое кишечника [10].

Ряд медиаторов, вырабатываемых при перитоните, уже связаны с теми или иными сопутствующими воспалению процессами. Так, ТФР  $\beta_1$  приводит к фиброзирующим изменениям в брюшине и нарушению ее функций (что особенно важно для пациентов, находящихся на гемодиализе); тромбоцитарный фактор роста PDGF-В способствует ангиогенезу; ИЛ 6 и его растворимый рецептор sIL-6R контролируют привлечение лейкоцитов в очаг повреждения в брюшной полости; комбинация интерферона с ФНО  $\alpha$  инициирует апоптоз клеток мезотелия. Даже единичный случай тяжелого перитонита может привести к необратимому фиброзу брюшины, что объясняет необходимость понимания особенностей механизма развития перитонеального воспаления [12].

Большое значение также имеют данные о роли в развитии фиброза  $M_2$ -активированных макрофагов. Известно, что именно они вырабатывают CD206, CD163, а также секретируют хемокин CCL18, уровень которого прямо коррелирует со степенью снижения резистентности брюшины к повреждающим факторам [13].

Показано, что в процессе воспаления брюшины клетки мезотелия начинают вырабатывать рецептор к TWEAK, запуская в т.ч. процесс привлечения макрофагов. TWEAK является слабым индуктором апоптоза, относящимся к группе ФНО. Его рецептор Fn14 вырабатывается при перитоните клетками мезотелия и макрофагами. При этом уровень экспрессии Fn14 клетками брюшины коррелирует со степенью фиброза. Кроме того, имеются данные, свидетельствующие о роли TWEAK в поддержании процесса асептического воспаления (в почках, стенках сосудов, в центральной нервной системе) [12]. Изучение гистологической картины повреждения брюшины при длительном перитонеальном диализе (не осложненном инфекцией) и связи с экспрессией Fn14 позволило сделать вывод о возможной роли TWEAK в этом повреждении. К тому же TWEAK обладает проангиогенным эффектом, а ангиогенез при воспалении брюшины связан с развитием перитонеальной дисфункции. В настоящее время проводится клиническое исследование, посвященное изучению роли нейтрализующих анти-TWEAK-антител и их потенциальной протективной функции при развитии асептического воспаления [12].

В 2003 г. была установлена существенная роль преобладания тех или иных внутриклеточных сигналов при перитоните. Так, у STAT6-дефицитных мышей усиливался локальный воспалительный ответ (следовательно, преобладал  $M_1$ -фенотип), что приводило к предотвращению распространения патогенов. В то же время неограниченный воспалительный ответ может оказаться фатальным,

что продемонстрировано на мышах при недостатке ИЛ 10 (известного стимула  $M_2$ ). Действие ИЛ 10 опосредуется транскрипционным фактором STAT3. У трансгенных мышей, лишенных способности экспрессировать STAT3 макрофагами и нейтрофилами, при индуцированном перитоните развивались более значимые, чем в контрольной группе, локальный и системный воспалительный ответы, а также повреждение печени и почек, повышение концентрации в крови различных цитокинов. При этом *in vitro* резидентные макрофаги таких мышей (в сравнении с контролем) проявляли меньшую бактерицидную активность. Уровни лизосомальных ферментов эффекторных клеток были значительно снижены при повышенной выработке воспалительных цитокинов [14].

Тогда же было выдвинуто допущение, что в механизме снижения бактерицидной активности задействованы супрессоры передачи цитокинового сигнала SOCS1 и SOCS3, а увеличение экспрессии STAT3 в макрофагах и нейтрофилах в определенный момент можно использовать для лечения синдрома системного воспалительного ответа [14].

Важен также факт того, что дефицит у мышей передатчиков сигнала MyD88 и TRIF (опосредующих, к примеру, ответ на ЛПС) приводит к уменьшению количества бактерий в брюшной полости и крови при септическом перитоните, т.е. сохраняется протективный ответ на ИФН  $\gamma$ , но ограничивается его эффект [15].

Существенно, что секретируемые жировой тканью адипонектины могут влиять на воспалительные процессы при перитонеальном диализе. Так, жировая ткань сальника, вовлекающаяся в воспалительный процесс при этом методе диализа, продуцирует провоспалительный ИЛ 6 в 2–3 раза интенсивнее, чем подкожная жировая ткань [16].

В последние годы особое значение приобрело исследование процесса лимфангиогенеза при перитоните, осложняющем перитонеальный диализ. В норме лимфатические сосуды брюшины обеспечивают дренаж брюшной полости. При остром же перитоните описаны значимые структурные и функциональные изменения стенок лимфатических сосудов (особенно диафрагмальной брюшины). Важную роль в лимфангиогенезе и лимфатической дисфункции играют CD11b<sup>+</sup>-макрофаги [17].

### Воспаление и перепрограммирование фенотипа макрофагов

Особый интерес представляет возможность управления воспалительным процессом путем воздействия на программу экспрессии генов и, ввиду этого, изменения фенотипа и эффектов макрофагов. Таким образом, потенциально возможно модифицировать и течение заболевания, компонентом патогенеза которого является воспаление.

Одним из первых примеров возможного целенаправленного перепрограммирования фенотипа макрофагов стало изменение спектра образуемых ими провоспалительных цитокинов в ответ на действие ЛПС. Показано также, что у животных после введения им сублетальных доз ЛПС повышалась устойчивость к последующему введению высокой дозы ЛПС [18].

Перепрограммирование макрофагов на  $M_1$ -фенотип вызывают  $T_{x1}$ -цитокины ИФН  $\gamma$  и ФНО  $\alpha$ , патогенассоциированные молекулярные комплексы (паттерны) — ЛПС, липопроотеины, различные грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы, цитомегалови-

рус, белки теплового шока, компоненты внеклеточного матрикса [19].

В направлении  $M_2$ -фенотипа макрофагов воздействие на них программируют  $T_{H2}$ -цитокины ИЛ 4 и 13, иммунные комплексы, ИЛ  $1\beta$  и 10, ТФР  $\beta$ , а в некоторых ситуациях — внутриклеточные патогены (*Coxiella burnetii*, *Leishmania*), витамин  $D_3$ , глюкокортикоиды; клетки, вступившие в апоптоз [19].

Протективную роль в отношении колоректального рака играют препараты, обладающие противовоспалительным эффектом, например статины и некоторые другие. В частности, статины обуславливают ряд эффектов: правастатин, розувастатин и флувастатин снижают инсулинорезистентность у больных ожирением вне зависимости от наличия диабета, хотя правастатин не показывает такого эффекта у пациентов с нормальной массой тела, чувствительных к инсулину. Все это позволяет предположить, что статины могут вызывать альтернативную активацию макрофагов. Установлено, что активация рецептора PPAR $\delta$  способствует формированию альтернативного фенотипа макрофагов и подавлению тканевого воспаления, повышению интенсивности окислительного катаболизма жиров скелетных мышц, миокарда, жировой ткани, печени; оптимизирует липидный профиль сыворотки крови, повышает чувствительность к инсулину и способствует потере массы тела при ожирении [7].

Доказано, что низкодозовое лазерное воздействие повышает экспрессию провоспалительных цитокинов и  $M_1$ -хемокинов макрофагами. В связи с этим С.-Н. Chen и соавт. делают вывод о том, что подобное воздействие лазерного облучения может быть применено при аллергических болезнях (но не при аутоиммунных процессах) [20].

Перспективным является перепрограммирование фенотипа макрофагов при воспалительных заболеваниях легких. Так, сурфактантный белок D (SP-D) является уникальным фактором перепрограммирования макрофагов, действующим по принципу «два в одном», т.к. способен программировать их генотип на реализацию как  $M_1$ -, так и  $M_2$ -фенотипа. Это возможно благодаря способности SP-D к олигомеризации. Мультимеры и додекамеры SP-D взаимодействуют с одним типом рецепторов на мембране альвеолярных макрофагов, а S-нитрозилированные тримеры — с другим. Показано также, что монооксид азота (за счет образования SNO в положении «цистеин 15») может регулировать образование додека-

меров SP-D и таким образом обеспечивать переключение эффекта SP-D с ингибирующей активности на воспалительную. Представляется реальной возможность использования SP-D для перепрограммирования макрофагов с целью управления воспалительным процессом и при других воспалительных заболеваниях [19].

Таким образом, стал очевидным тот факт, что макрофаги могут существенно менять течение многих форм патологии, одним из звеньев патогенеза которых является воспаление. Для большинства метаболических заболеваний (при наличии асептического воспаления) более благоприятный исход обеспечивают  $M_2$ -макрофаги. Это происходит за счет подавления ими вялотекущего воспалительного процесса (например, в жировой ткани при метаболическом синдроме). Клетки же  $M_1$ -фенотипа доминируют в воздействиях на опухолевый рост.

Несколько иная ситуация складывается с воспалением, вызванным инфекционными агентами. Роль макрофагов различных фенотипов отличается даже среди однотипных заболеваний. Возможно, это связано с тем, что возбудители инфекционных и паразитарных заболеваний претерпевали эволюцию параллельно с изменениями системы иммунобиологического надзора человека и животных, вырабатывая адаптивные механизмы. Так, при перитоните более благоприятным для организма представляется преобладание эффектов макрофагов  $M_1$ , приводящее к эффективному бактерицидному эффекту. В то же время макрофаги  $M_2$  при перитоните важны в процессе торможения чрезмерного выделения цитокинов, приводящего к несостоятельности иммунного ответа.

## Заключение

Изучение роли фенотипов макрофагов в патогенезе различных форм патологии открывает перспективы для их целенаправленного перепрограммирования как инструмента контроля различных звеньев патогенеза заболеваний человека.

## Конфликт интересов

Обзор написан в рамках программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре, финансируемой за счет средств федерального бюджета.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лямина С.В., Веденикин Т.Ю., Круглов С.В., Шимшелавили Ш.Л., Буданова О.П., Малышев И.Ю. Особенности фагоцитарной и миграционной активности альвеолярных макрофагов  $M_1$  и  $M_2$  фенотипов. *Фундаментальные исследования*. 2011; 11: 536–539. URL: [http://www.rae.ru/fs/?section=content&op=show\\_article&article\\_id=7981832](http://www.rae.ru/fs/?section=content&op=show_article&article_id=7981832) (дата обращения: 15.04.2014).
2. Martinez F. O., Gordon. S. The  $M_1$  and  $M_2$  paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *Prime Rep*. 2014; 6: 13. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3944738/> (дата обращения: 05.04.2014).
3. Edwards J.P., Zhang X., Frauwirth K.A., Mosser D.M. Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations. *J. Leukoc. Biol*. 2006; 80 (6): 1298–1307. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2642590/> (дата обращения: 15.04.2014).
4. Murray P.J., Wynn T.A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat. Rev. Immunol*. 2011; 11 (11): 723–737. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3422549/> (дата обращения: 15.04.2014).
5. Van Dyken S.J., Locksley R.M. Interleukin-4 and Interleukin-13 mediated alternatively activated macrophages: roles in homeostasis and disease. *Ann. Rev. Immunol*. 2013; 31: 317–343. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3606684/> (дата обращения: 15.04.2014).
6. Waseem T., Duxbury M., Ito H., Ashley S.W., Robinson M.K. Exogenous ghrelin modulates release of pro- and anti-inflammatory cytokines in LPS stimulated macrophages through distinct signaling pathways. *Surgery*. 2008; 143 (3): 334–342. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2278045/> (дата обращения: 02.05.2014).
7. Odegaard J.I., Chawla A. Alternative Macrophage Activation and Metabolism. *Ann. Rev. Pathol*. 2011; 6: 275–297. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3381938/> (дата обращения: 15.04.2014).
8. Lee K.A., Lynd J.D., O'Reilly S., Kiupel M., McCormick J.J., LaPres J.J. The biphasic role of the hypoxia-inducible factor prolyl-4-

- hydroxylase, PHD2, in modulating tumor-forming potential. *Mol. Cancer. Res.* 2008; 6 (5): 829–842. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18505927> (дата обращения: 29.04.2014).
9. Hamm A., Veschini L., Takeda Y., Costa S., Delamarre E., Squadrito M.L., Henze A.T., Wenes M., Serneels J., Pucci F., Roncal C., Anisimov A., Alitalo K., De Palma M., Mazzone M. PHD2 regulates arteriogenic macrophages through TIE2 signalling. *EMBO Mol. Med.* 2013; 5 (6): 843–857. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3779447/> (дата обращения: 16.04.2014).
  10. Ерюхин И.Е., Гельфанд Б.Р., Филимонов М.И., Ефименко Н.А., Подачин П.В. Перитонит. В кн.: Хирургические инфекции. Практ. рук.-во. Под ред. И.А. Ерюхина, Б.Р. Гельфанда, С.А. Шляпникова. М.: *Литтеппа*. 2006. С. 470–487.
  11. Савельев В.С., Подачин П.В., Кириенко А.И. Перитонит. В кн.: Клиническая хирургия. Нац. рук.-во. Под ред. В.С. Васильева, А.И. Кириенко. М.: *ГЭОТАР-Медиа*. 2013. Т. II. С. 477.
  12. Sanz A.B., Aroeira L.S., Bellon T., del Peso G., Jimenez-Heffernan J., Santamaria B., Sanchez-Niño M.D., Blanco-Colio L.M., Lopez-Cabrera M., Ruiz-Ortega M., Egido J., Selgas R., Ortiz A. TWEAK promotes peritoneal inflammation. *PLoS ONE*. 2014; 9 (3): 90399. URL: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0090399> (дата обращения: 09.04.2014).
  13. Bellón T., Martínez V., Lucendo B., del Peso G., Castro M.J., Aroeira L.S., Rodríguez-Sanz A., Ossorio M., Sánchez-Villanueva R., Selgas R., Bajo M.A. Alternative activation of macrophages in human peritoneum: implications for peritoneal fibrosis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2011; 26 (9): 2995–3005. URL: <http://m.ndt.oxfordjournals.org/content/26/9/2995.long?view=long&pmid=21324976> (дата обращения: 27.04.2014).
  14. Matsukawa A., Takeda K., Kudo S., Maeda T., Kagayama M., Akira S. Aberrant inflammation and lethality to septic peritonitis in mice lacking STAT3 in macrophages and neutrophils. *J. Immunol.* 2003; 171 (11): 6198–6205. URL: <http://www.jimmunol.org/content/171/11/6198.long> (дата обращения: 26.04.2014).
  15. Reim D., Rossmann-Block T., Jusek G., Prazeres da Costa O., Holzmann B. Improved host defense against septic peritonitis in mice lacking MyD88 and TRIF is linked to a normal interferon response. *J. Leukoc. Biol.* 2011; 90 (3): 613–620. URL: <http://www.jleukbio.org/content/90/3/613.full> (дата обращения: 17.04.2014).
  16. Lai K.N., Leung J.C. Peritoneal adipocytes and their role in inflammation during peritoneal dialysis. *Med. Infl.* 2010; 2010: 495416. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2864891/> (дата обращения: 25.04.2014).
  17. Kim K.E., Koh Y.J., Jeon V.H., Jang C., Han J., Kataru R.P., Schwendener R.A., Kim J.M., Koh G.Y. Role of CD11b macrophages in intraperitoneal lipopolysaccharide induced aberrant lymphangiogenesis and lymphatic function in the diaphragm. *Am. J. Pathol.* 2009; 175 (4): 1733–1745. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2751568/> (дата обращения: 27.04.2014).
  18. West M.A., Bennet T., Seatter S.C., Clair L., Bellingham J. LPS pretreatment reprograms macrophage LPS-stimulated TNF and IL-1 release without protein tyrosine kinase activation. *J. Leukoc. Biol.* 1997; 61 (1): 88–95. URL: <http://www.jleukbio.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=9000541> (дата обращения: 17.04.2014).
  19. Лямина С.В., Круглов С.В., Веденикин Т.Ю., Малышев И.Ю. Новая стратегия управления иммунным ответом при заболеваниях легких. Роль сурфактантного белка D как бивалентного фактора репрограммирования макрофагов. *Фундаментальные исследования*. 2011; 1: 90–98. URL: [www.rae.ru/fs/?section=content&op=show\\_article&article\\_id=15813](http://www.rae.ru/fs/?section=content&op=show_article&article_id=15813) (дата обращения: 15.04.2014).
  20. Chen C.H., Wang C.Z., Wang Y.H., Liao W.T., Chen Y.J., Kuo C.H., Kuo H.F., Hung C.H. Effects of Low-Level Laser Therapy on M1 related cytokine expression in monocytes VIA histone modification. *Med. Infl.* 2014; 2014: 625048. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3945284/> (дата обращения: 15.04.2014).

**КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

**Сахаров Владимир Николаевич**, аспирант кафедры патофизиологии лечебного факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова

**Адрес:** 119992, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 708-34-81, **e-mail:** vladimirsah91@mail.ru

**Литвицкий Пётр Францевич**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой патофизиологии лечебного факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова

**Адрес:** 119992, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 708-34-81, **e-mail:** litvicki@mma.ru

О.В. Кожевникова<sup>1</sup>, Л.С. Намазова-Баранова<sup>1,2,3</sup>, Э.А. Абашидзе<sup>1</sup>, В.В. Алтунин, А.С. Балабанов<sup>1</sup>,  
И.В. Широкова<sup>1</sup>, И.И. Кондрахина<sup>1</sup>, Т.А. Полунина<sup>1</sup>, Т.В. Маргиева<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

<sup>3</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва,  
Российская Федерация

## Синдром обструктивного апноэ сна у детей как риск развития сердечно-сосудистой патологии

**Цель исследования:** выявить предикторы сердечно-сосудистых нарушений у детей на фоне синдрома обструктивного апноэ сна (СОАС) по результатам полисомнографии и непрерывного мониторинга глюкозы. **Методы:** перед обследованием родители заполняли анкету-вопросник по качеству сна; исследование сна проведено методом полисомнографии (Embla S7000, США). Системой непрерывного мониторинга глюкозы (Guardian Real-Time, Medtronic MiniMed, США) исследовали гликемический профиль в тканевой жидкости. **Результаты:** обследовано 120 детей в возрасте 3–16 лет. Детей распределяли по группам патологий: 31 — с болезнями нервной системы, 18 — с патологией ЛОР-органов, 24 — с бронхиальной астмой и 34 — с избыточным весом и ожирением (ИВиО); 13 практически здоровых детей составили группу сравнения. Родители каждого второго ребенка не знали о нарушениях дыхания во время сна у своих детей. Храп в общей выборке при повышенном ИМТ обнаружен у 60% детей, что значимо чаще, чем у детей с нормальным ИМТ (35%;  $p = 0,012$ ). Индекс апноэ / гипопноэ был выше при патологии ЛОР-органов в 17 раз ( $p < 0,001$ ) и в группе с ИВиО в 7 раз ( $p < 0,001$ ) по отношению к группе сравнения. В этих же группах оказалась повышенной частота сердечных сокращений по сравнению с группой сравнения ( $p = 0,002$ ). При анализе в общей выборке ( $n = 120$ ) была получена значимая отрицательная связь между вариабельностью ритма сердца и частотой сердечных сокращений ( $r = -0,405$ ;  $p < 0,001$ ). Показано, что из 14 обследованных только у детей с повышенным ИМТ и ростом выше среднего ( $>1SD$ ;  $n = 8$ ) были зарегистрированы эпизоды ночной гипогликемии ( $< 3,3$  ммоль/л). **Заключение:** дети с патологией ЛОР-органов и повышенным ИМТ на фоне СОАС подвержены риску развития сердечно-сосудистой патологии. Дети с ростом выше среднего и повышенным ИМТ на фоне СОАС имеют дополнительные предпосылки для развития сердечно-сосудистых заболеваний в виде скрытых периодов гипогликемии в ночной период. **Ключевые слова:** дети, сердечно-сосудистая патология, синдром обструктивного апноэ сна, ожирение, патология ЛОР-органов, рост выше среднего, гипогликемия.

(Вестник РАМН. 2015; 1: 32–40)

32

O.V.Kozhevnikova<sup>1</sup>, L.S. Namazova-Baranova<sup>1,2,3</sup>, E.A. Abashidze<sup>1</sup>, V.V. Altunin<sup>1</sup>, A.S. Balabanov<sup>1</sup>,  
I.V. Shirokova<sup>1</sup>, I.I. Kondrahina<sup>1</sup>, T.A. Polunina<sup>1</sup>, T.V. Margieva<sup>1,2</sup>

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

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

<sup>3</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

## Obstructive Sleep Apnea Syndrome in Children as a Risk of Cardiovascular Pathology Development

**Objective:** Our aim was to examine the predictors of cardiovascular disorders in children affected by obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) based on the results of polysomnography and continuous monitoring of blood glucose. **Methods:** Before the examination, parents filled in questionnaires concerning their children sleep quality. The procedure was followed by the study of the sleep by means of polysomnography (Embla s 7000, USA). A system of continuous monitoring of blood glucose was applied (Guardianreal-time, Medtronicminimed, USA) by means of which a glycemic profile tissue fluid was studied. **Results:** A night sleep research of 120 children aged 3–16 y.o. is presented. There were 4 groups depending on the pathology: diseases of the nervous system ( $n = 31$ ), ENT-pathology ( $n = 18$ ), bronchial asthma ( $n = 24$ ) and overweight and obesity ( $n = 34$ ). The comparison group consisted of 13 apparently healthy children. The study has shown that the parents of every second child with sleep disorders did not know about the fact. The 60 % of the patients with high body mass index (BMI) had a snore, which was significantly higher the in children with normal body mass index — 35% ( $p = 0.012$ ). The index of apnea-hypopnea (AHI) was higher in the patients with ENT-pathology 17 times ( $p < 0.001$ ) and the patients with obesity 7 times ( $p < 0.001$ ) in comparison to the comparison group. In the analysis of the overall sample ( $n = 120$ ) was obtained significant negative correlation with heart rate variability and heart rate ( $r = 0.405$ ;  $p < 0.001$ ). It is also shown that among 14 investigated children with OSAS only 8 had episodes of hypoglycemia (less than 3.3 mmol/l) during night sleep. All of them were with a high body mass index and with above average stature ( $>1sd$ ). **Conclusion:** Children with ENT-pathology and with high high body mass index have high risk of cardio-vascular diseases. Children with above average stature and with increased body mass index affected by OSAS have additional backgrounds for cardiovascular diseases development as a result of the latent periods of hypoglycemia at night.

**Key words:** children, obstructive sleep apnea, sleep disorders, obesity, adenotonsillar hypertrophy, cardiovascular system, high height, hypoglycemia.  
(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 32–40)



**Обоснование**

Конец XX в. ознаменовался критическим пересмотром представлений о патогенезе заболеваний сердца и сосудов. Доля российских детей, умерших в подростковом возрасте (10–19 лет), за последние 5 лет увеличилась с 65,7 до 72,4%, а среди причин смерти повысился вклад сосудистых поражений сердца и головного мозга [1]. Установлена связь артериальной гипертензии, атеросклероза, инфаркта, инсульта, ожирения у взрослых с нарушением дыхания во сне [2–4]. С учетом того, что за последние 20 лет распространенность ожирения среди детей в возрасте 6–11 лет увеличилась вдвое, а среди подростков 12–19 лет — в 3 раза [5], а ожирение связано как с развитием сердечно-сосудистой патологии, так и с нарушением дыхания во сне, можно предполагать увеличение актуальности проблемы сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в контексте синдрома обструктивного апноэ сна (СОАС) в будущем [6, 7]. Помимо ожирения, одной из важных причин первичного храпа и СОАС у детей является патология ЛОР-органов (ПЛО) — адено tonsиллярная гипертрофия [7, 8].

Частота встречаемости СОАС у детей составляет 1–13% в зависимости от методов его выявления [7, 8], и существуют основания полагать, что зачастую он остается незамеченным [9].

Показано, что на фоне СОАС формируются нарушения углеводного обмена [10]. Исследования нарушений уровня гликемии в ночной период у детей для выявления риска внезапной смерти проводятся в настоящее время преимущественно при диабете 1-го и 2-го типа [11–13]. В качестве предиктора ночных гипогликемий и риска внезапной смерти у молодых взрослых при диабете и СОАС была предложена дневная сонливость [14]. В то же время отмечено, что дневная сонливость характерна для детей с СОАС [7, 8]. Высокий рост при ожирении у детей рассматривается как признак инсулинорезистентности, а также повышенного риска развития ССЗ [15, 16].

Исследований нарушения дыхания во сне как причины формирования сердечно-сосудистой патологии у детей пока недостаточно [2, 17]. Однако положительный опыт стран с низким уровнем смертности от ССЗ показывает, что на успешность борьбы с этой патологией огромное влияние оказывают ее раннее выявление и профилактика.

Целью исследования было установить предикторы сердечно-сосудистых нарушений у детей с СОАС по результатам полисомнографии и непрерывного мониторинга глюкозы.

**Методы**

**Дизайн исследования**

Проведено проспективное сравнительное исследование с последовательным включением детей (рис. 1).

**Критерии соответствия**

Общие для всех групп критерии исключения — возраст младше 3 лет, пороки развития, онкологические, системные заболевания, эндокринная патология, острые заболевания. Дополнительные критерии соответствия представлены в таблице (табл. 1).

**Условия проведения**

Исследование выполнено на базе консультативно-диагностического центра (КДЦ) Научного центра здоровья детей (Москва).

**Продолжительность исследования**

Исследование проводили в период с 2011 по 2014 гг.

**Методы исследования**

На предварительном этапе обследования осуществлялось заполнение анкеты-вопросника сна в процессе беседы с пациентами и их родителями [18].

Полисомнография (ПСГ) выполнялась амбулаторно, в условиях КДЦ, в ночное время на приборе Embla S4000 (США). На основании полученных показателей строили гипнограмму, отражающую динамику стадий и фаз ночного сна, анализировали параметры дыхания во сне. Проводили анализ процентной представленности стадий сна ( $S_1, S_2, S_3 + S_4$ ) и фазы быстрого сна (REM) по отношению к общему времени сна; показателя времени бодрствования внутри сна; индекса апноэ / гипопноэ (ИАГ) — числа эпизодов за 1 ч; средней частоты сердечных сокращений (ЧСС); вариабельности ритма сердца (ВРС) в ночной период; а также уровня насыщения крови кислородом ( $SpO_2$ ). Начало ПСГ определялось обычным

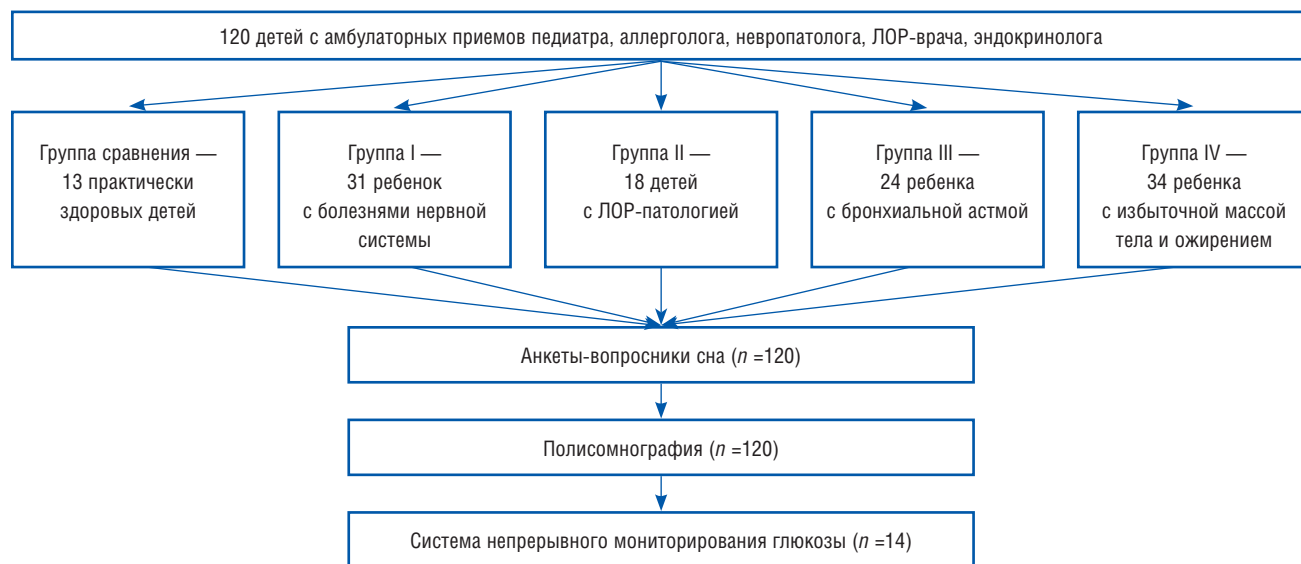


Рис. 1. Дизайн исследования.

Таблица 1. Критерии включения-исключения в группе сравнения и по группам патологий

| Критерии соответствия | Группа сравнения                             | Группа I   | Группа II   | Группа III  | Группа IV  |
|-----------------------|--|--|---|---|--|
| Критерии включения    | 1SD <ИМТ <1SD, отсутствие субъективных жалоб | Синдром вегетативной дисфункции, цефалгии, синдром дефицита внимания и гиперактивности | Наличие ПЛО (аденоиды II–III ст., гипертрофия небных миндалин II–III ст., искривление носовой перегородки, аллергический ринит, поллиноз) | Бронхиальная астма среднетяжелого и тяжелого течения, атопическая форма в стадии ремиссии. Допускалась базисная противовоспалительная терапия в виде ингаляционных глюкокортикоидов под наблюдением врача | Избыточный вес (1SD <ИМТ <2SD) и экзогенно-конституциональное ожирение (2SD <ИМТ <3SD) |
| Критерии исключения   | Острые и хронические заболевания             | ПЛО с признаками нарушения дыхания, ожирение   | Ожирение  | Неконтролируемая бронхиальная астма, ПЛО с нарушением дыхания, ожирение   | ПЛО с назальной обструкцией ИМТ >3SD   |

Примечание. ИМТ — индекс массы тела (кг/м<sup>2</sup>), ПЛО — патология ЛОР-органов.

для ребенка временем отхода ко сну (21.30–22.30), конец — естественным пробуждением ребенка (8.00–9.00). Параметры оценивали в соответствии с международными рекомендациями и критериями [19, 20].

Система непрерывного мониторинга глюкозы (Guardian REAL-Time, Medtronic MiniMed, США) включает одноразовый подкожный сенсор глюкозы, имеющий беспроводное подключение к монитору размером с пейджер. Принцип работы прибора основан на широко используемом в биохимических лабораториях глюкозооксидазном методе. Система производит измерения глюкозы в интерстициальной жидкости каждые 10 с в диапазоне 40–400 мг/дл (2,2–22,2 ммоль/л), сохраняет средние значения каждые 5 мин (в общей сложности 288 измерений в сут). Полученные данные обрабатываются с помощью специальной программы. Записи профилей были сделаны нами в течение 72 ч. При проведении исследования также велся подробный дневник с указанием времени приемов пищи, сна и физической активности. Концентрация глюкозы 3,3 ммоль/л была выбрана в качестве гипогликемического порога, 5–6 ммоль/л — в качестве верхнего нормального порога [11].

#### Этическая экспертиза

Получено согласие родителей на проведение сложного диагностического исследования в условиях КДЦ Научного центра здоровья детей (Москва). Все родители подписали информированное согласие на исследование.

#### Статистический анализ

Обработка данных исследования выполнена в статистическом программном пакете IBM SPSS Statistics v. 21 (SPSS: An IBM Company, США). Сводные таблицы и диаграммы с описательной статистикой содержат оценки долей (в %) для категориальных показателей; 25-й (Q1 — первый квартиль), 50-й (медиана, Me) и 75-й (Q3 — третий квартиль) процентиля — для количественных показателей. В случае малого размера групп (например, при обобщении результатов мониторинга глюкозы) квартильные оценки были заменены средним (M) и стандартным отклонением (SD), также приводились минимальные и максимальные значения результатов наблюдения. Графически различия в распространенности жалоб по группам иллюстрировали кластеризованными столбцовыми диаграммами, связь между количественными признаками — диаграммами разброса. Для описания разброса числового признака и сравнения групп по

уровню этого признака применяли ящичковые диаграммы, отображающие квартили распределения и границы 1,5 межквартильных размахов (IQR). Значения признаков, выходящих за пределы указанных границ, отмечали на диаграммах точками как статистические выбросы в соответствии с критерием Тьюки. После анализа указанных наблюдений оснований для их исключения из анализа отмечено не было. Для сравнения уровня количественных показателей в группах использовали критерии Манна-Уитни (при сравнении двух групп) и Краскела-Уоллиса (при сравнении более чем двух групп). Сравнение долей производили при помощи z-критерия. Значимость статистических критериев фиксировали при  $p < 0,05$ . При необходимости попарного сравнения нескольких групп в уровень значимости вводили поправку Бонферрони. Численно связь двух количественных признаков оценивали с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

## Результаты

### Участники исследования

Обследовано 120 детей в возрасте 3–16 лет (средний возраст  $9,9 \pm 3,9$  года), из них 41 (34%) девочка и 79 (66%) мальчиков. Дети были распределены по группам: I — с болезнями нервной системы ( $n = 31$ ), II — с патологией ЛОР-органов (ПЛО),  $n = 18$ ; III — с аллергическими болезнями,  $n = 24$  детей; IV — с избыточным весом (1SD <ИМТ <2SD) и ожирением (2SD <ИМТ <3SD; ИВиО),  $n = 34$ . В группу сравнения вошли 13 практически здоровых детей в возрасте 7–16 лет (средний возраст  $10,7 \pm 4,0$  года).

### Основные результаты исследования

Группы были сопоставлены по параметрам физического развития (табл. 2). Только в группе IV мальчики были значимо выше по росту, чем девочки ( $p = 0,037$ ). В остальных группах различий между полами по параметрам физического развития получено не было.

В общей группе обследованных были выявлены 18 детей с ростом выше среднего (>1SD), все они имели повышенный ИМТ. Анализ значимости связи ожирения и роста выше среднего был проведен с учетом возраста. Из рис. 2 видно, что для каждого диапазона возраста пациенты с ожирением оказываются смещенными вверх по оси роста относительно пациентов без ожирения.

Таблица 2. Показатели физического развития детей в группе сравнения и по группам патологий

| Мальчики                                       |    |         |     | Девочки |    |         |     | p   |       |
|--|----|---------|-----|---------|----|---------|-----|-----|-------|
|  | n  | Медиана | Q1  | Q3      | n  | Медиана | Q1  |     | Q3    |
| Группа сравнения (здоровые дети, n = 13)       |    |         |     |         |    |         |     |     |       |
| Возраст, лет                                   | 6  | 12      | 8   | 15      | 7  | 8       | 7   | 15  | 0,445 |
| Рост, см                                       |    | 141     | 126 | 164     |    | 133     | 128 | 162 | 0,731 |
| ИМТ, кг/м <sup>2</sup>                         |    | 17      | 15  | 18      |    | 15      | 15  | 21  | 0,628 |
| Группа I — болезни нервной системы (n = 31)    |    |         |     |         |    |         |     |     |       |
| Возраст, лет                                   | 19 | 7       | 4   | 13      | 12 | 10      | 9   | 13  | 0,152 |
| Рост, см                                       |    | 129     | 111 | 162     |    | 139     | 127 | 155 | 0,326 |
| ИМТ, кг/м <sup>2</sup>                         |    | 16      | 15  | 17      |    | 16      | 15  | 17  | 0,617 |
| Группа II — патология ЛОР-органов (n = 18)     |    |         |     |         |    |         |     |     |       |
| Возраст, лет                                   | 12 | 8       | 7   | 10      | 6  | 7       | 3   | 8   | 0,102 |
| Рост, см                                       |    | 129     | 123 | 141     |    | 116     | 105 | 129 | 0,067 |
| ИМТ, кг/м <sup>2</sup>                         |    | 15      | 15  | 17      |    | 16      | 15  | 17  | 0,964 |
| Группа III — аллергические болезни (n = 24)    |    |         |     |         |    |         |     |     |       |
| Возраст, лет                                   | 17 | 14      | 10  | 15      | 7  | 14      | 8   | 16  | 0,804 |
| Рост, см                                       |    | 151     | 142 | 176     |    | 159     | 127 | 166 | 0,494 |
| ИМТ, кг/м <sup>2</sup>                         |    | 19      | 17  | 20      |    | 19      | 15  | 21  | 0,951 |
| Группа IV — избыточный вес и ожирение (n = 34) |    |         |     |         |    |         |     |     |       |
| Возраст, лет                                   | 25 | 11      | 9   | 13      | 9  | 8       | 7   | 11  | 0,140 |
| Рост, см                                       |    | 146     | 130 | 166     |    | 130     | 115 | 145 | 0,037 |
| ИМТ, кг/м <sup>2</sup>                         |    | 25      | 21  | 27      |    | 21      | 19  | 25  | 0,120 |

Примечание. Q1 — нижний квартиль, Q3 — верхний квартиль, p — уровень значимости статистики по критерию Манна–Уитни (сравнение между полами внутри групп детей).

По результатам заполнения анкет-вопросников сна в группе практически здоровых детей жалобы на какие-либо нарушения сна предъявляли единичные пациенты в отличие от 85% детей из групп патологий. Наиболее частыми в группах по патологиям были жалобы на нарушение дыхания во сне (57%) и повышенную дневную сонливость (47%; рис. 3).

В группе I наиболее частыми жалобами были ночные пробуждения (45%), беспокойный сон (45%), беспокойство по утрам (42%). Дневная сонливость (23%) и нарушение дыхания во сне (35%) оказались одними из самых низких показателей по группам патологий. У детей группы I основные жалобы были связаны с нарушением сна, но не с дыхательными нарушениями во время сна.

У детей группы II нарушение дыхания во сне и храп преобладали и значимо отличали ее от групп I (p = 0,002, p < 0,001, соответственно) и III (p = 0,004, p = 0,001, соответственно; см. рис. 2). Дневная сонливость отмечалась более чем у 1/2 детей (55%).

В группе III были выявлены разнообразные нарушения ночного сна практически у всех детей (95%). Жалобы на дневную сонливость (38%) и нарушение дыхания во сне (38%) хотя и преобладали среди прочих жалоб, но встречались значимо реже, чем в группе IV (p = 0,016, p = 0,006, соответственно).

В группе IV был зарегистрирован высокий процент встречаемости жалоб на нарушение дыхания во сне (76%), дневную сонливость (71%), беспокойный сон (71%) и храп (65%). Показатели по нарушению дыхания и храпа были значимо выше по сравнению с группами I (p = 0,001 и p < 0,001, соответственно) и III (см. выше).

Таким образом, сравнительная оценка субъективных жалоб по группам детей с патологиями показала, что нарушение дыхания во сне, храп и дневная сонливость преобладали у детей с ПЛО и при ИВиО. При последующем сопоставлении жалоб с результатами ПСГ установили, что родители каждого второго ребенка не знали о имеющихся у их детей нарушениях дыхания во время сна.

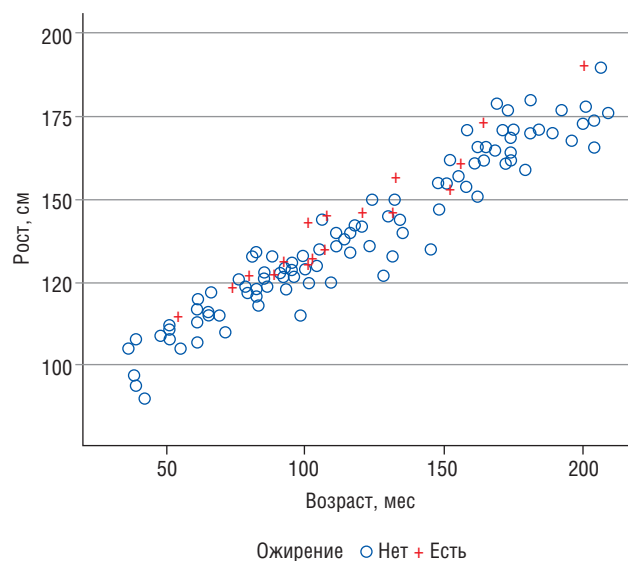


Рис. 2. Связь ожирения и роста с учетом возраста.

**Результаты показателей параметров сна по результатам полисомнографии у детей по группам патологий**

Нами был проведен анализ показателей ПСГ путем сравнения групп патологий и сопоставление их с показателями группы сравнения, результаты которой полностью соответствовали возрастной норме (табл. 3) [19, 20].

У детей группы I представленность S<sub>1</sub>-стадии фазы медленного сна была статистически значимо выше (p = 0,026), а REM-сна — ниже, чем в группе сравнения (p = 0,001). В этой группе ИАГ был в среднем 1,1 событий/ч, максимально — 1,85 событий/ч вследствие легкой степени апноэ смешанного генеза у единичных детей. Храп зарегистрирован у 18% детей этой группы.

У детей группы II процентная представленность S<sub>1</sub>-стадии сна изменялась в широком диапазоне (Q1 = 4;

Q3 =25), но медиана практически соответствовала группе сравнения. REM-сон также варьировал в широком диапазоне, но показатель был значимо ниже, чем в группе сравнения ( $p < 0,015$ ), а увеличение медианы ИАГ составило 17 ( $p < 0,001$ ).

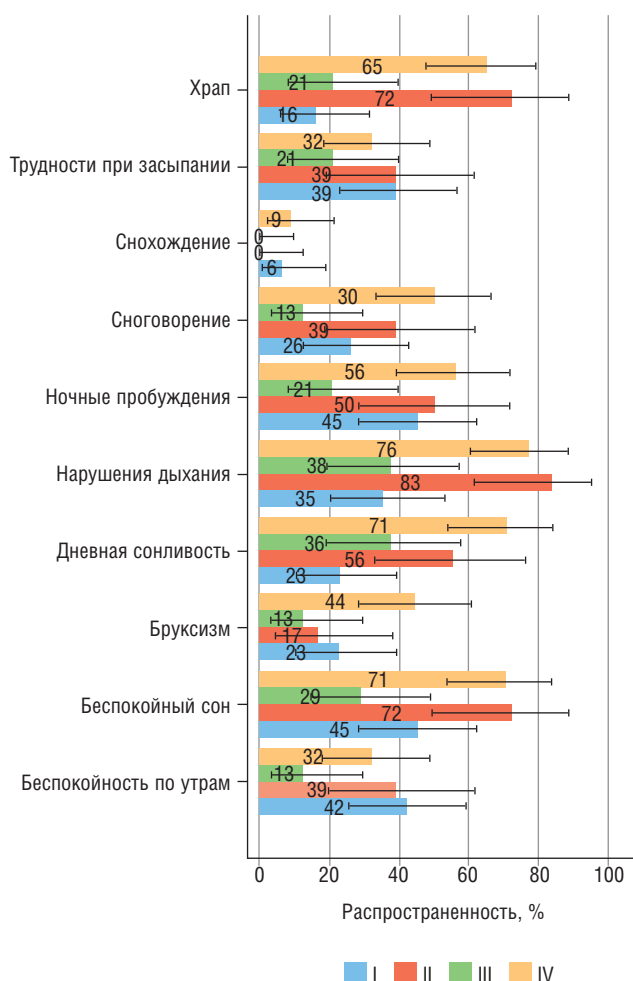


Рис. 3. Сравнительная распространенность жалоб в группах I–IV (%) и 95% доверительный интервал

У детей группы III процентная представленность стадий  $S_3$ – $S_4$  фазы медленного сна сокращена ( $p = 0,014$ ), а фаза REM-сна также была одной из самых низких по группам ( $p < 0,002$ ). При этом из табл. 3, видно что медиана ИАГ в этой группе соответствовала группе сравнения, несмотря на то, что храп наблюдали у 29% детей.

В группе IV стадии  $S_3$ – $S_4$  — с тенденцией к сокращению (на границе значимости;  $p = 0,085$ ). От группы сравнения дети группы IV отличались значимо сокращенной стадией REM-сна ( $p < 0,001$ ), ИАГ был повышен в 7 раз ( $p < 0,001$ ), но в меньшей степени, чем в группе II.

Таким образом, структура сна была нарушена во всех группах патологий с преобладанием сокращения REM-сна во всех группах. Основное различие при этом составлял ИАГ — основной признак СОАС, который был значимо повышен и преобладал в группах II и IV.

Снижение сатурации кислородом ( $SpO_2$ ) в группах II и IV соответствовало повышенным показателям ИАГ. В группе с патологией ЛОР-органов он был снижен значимо ( $p = 0,009$ ; рис. 4).

В целом распределение показателя ИАГ оказалось сильно скошено, большинство значений сосредоточено в околонулевой зоне, при этом присутствуют 7 пациентов со значениями ИАГ более 10 событий/ч (СОАС тяжелой степени), поэтому для наглядности отображения различия между группами шкала имеет логарифмическое, а не линейное деление (нулевые значения исключены; рис. 5).

Из рис. 5 видно, что во всех группах с патологиями ИАГ выше, чем в группе сравнения. При этом отмечается наличие отдельных характерных пациентов (в группах II и IV), показатели которых значительно выходят за пределы нормы и соответствуют тяжелым формам апноэ / гипопноэ.

По результатам нашего исследования вариабельность ритма сердца по группам патологий изменялась в широком диапазоне, и была отмечена тенденция к ее снижению в группе IV.

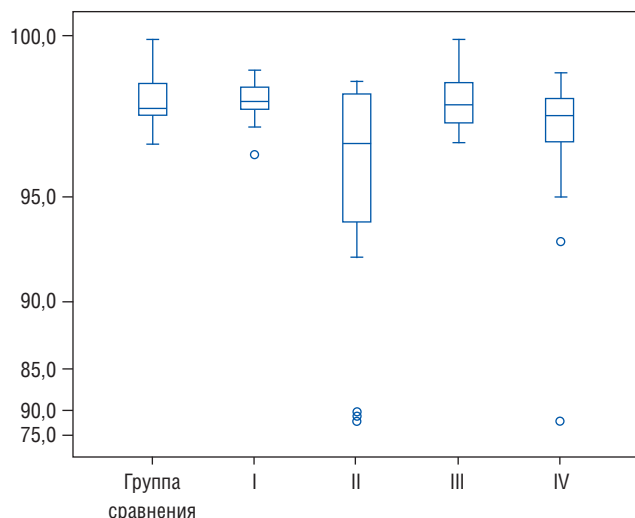
При анализе в общей выборке ( $n = 120$ ) была получена значимая отрицательная связь ВРС с ЧСС ( $r = -0,405$ ;  $p < 0,001$ ).

Анализ связи ВРС и ИМТ в общей группе детей ( $n = 120$ ) показал признаки слабой отрицательной взаимосвязи между ВРС и ИМТ ( $r = -0,143$ ;  $p = 0,130$ ). Мы

Таблица 3. Показатели полисомнографии у обследованных детей по группам, Ме [Q1; Q3]

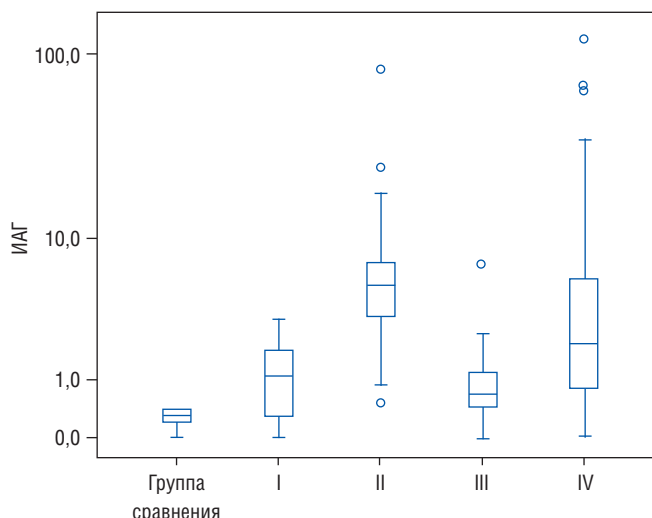
| Параметры                           | Группа сравнения ( $n = 13$ ) | I ( $n = 31$ )     | II ( $n = 18$ )       | III ( $n = 24$ )   | IV ( $n = 34$ )     | $p$    |
|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|---------------------|--------|
| I стадия сна ( $S_1$ ), %           | 7,0 [3,5; 9,0]                | 17,5 [6,8; 22,9]   | 8,75 [3,925; 24,525]  | 14,3 [6,85; 21,9]  | 7,85 [4,125; 16,8]  | 0,013  |
| II стадия сна ( $S_2$ ), %          | 30,6 [27,4; 41,4]             | 39,8 [31,65; 46,5] | 39,1 [31,275; 45,225] | 41,4 [37,65; 44,8] | 40,25 [35,4; 53,25] | 0,190  |
| Дельта-сон ( $S_3 + S_4$ ), %       | 36,5 [28,9; 38,6]             | 24,5 [18,9; 29,95] | 24,3 [18,05; 30,575]  | 22,4 [17,8; 26,95] | 24,1 [20,7; 29,3]   | 0,028  |
| Фаза быстрого сна (REM-фаза), %     | 23,8 [19,9; 26,3]             | 14,8 [10,25; 18,7] | 17,4 [9,225; 21,675]  | 14,4 [10,35; 18,9] | 13,7 [7,1; 18,2]    | <0,001 |
| Время бодрствования во сне, %       | 1,5 [0,6; 4,2]                | 2,1 [0,9; 7,95]    | 2,3 [0,448; 9,475]    | 5,8 [2,8; 9,05]    | 4,6 [1,4; 9,0]      | 0,081  |
| Индекс апноэ / гипопноэ, эпизодов/ч | 0,3 [0,2; 0,4]                | 1,1 [0,1; 1,85]    | 5,2 [2,725; 7,2]      | 0,7 [0,4; 1,2]     | 2,1 [0,8; 6,0]      | <0,001 |
| $SpO_2$ , %                         | 98,5 [97,8; 99,0]             | 98,2 [98; 98,6]    | 96,9 [93,6; 98,425]   | 98,3 [97,6; 98,8]  | 97,8 [96,9; 98,3]   | 0,009  |
| ЧСС, уд./мин                        | 73 [68; 75]                   | 74,1 [66,45; 82,5] | 76,95 [69; 88,425]    | 65,6 [58,75; 71,6] | 78,85 [67,3; 87,55] | 0,002  |
| ВРС, мс                             | 118 [114; 123]                | 115 [89; 136]      | 113 [83,75; 128,75]   | 116 [95; 134,5]    | 110 [77; 135]       | 0,697  |

Примечание. Значения  $p$  соответствуют критерию Краскела–Уоллиса при одновременном сравнении уровня распределений признаков одновременно в 5 группах. В дальнейшем анализе (попарно между группами) использовали критерий Манна–Уитни с поправкой Бонфферони на множественные сравнения. ЧСС — частота сердечных сокращений, ВРС — вариабельность ритма сердца.



**Рис. 4.** Индекс сатурации кислородом в группе сравнения и по группам патологий ( $SpO_2$ , %).

*Примечание.* Для отображения ящичковых диаграмм с учетом наличия сильных выбросов в сторону низкой сатурации применена степенная шкала.



**Рис. 5.** Индекс апноэ / гипопноэ (ИАГ, событий в час; логарифмическая шкала) в группе сравнения и по группам патологий.

предположили, что связь между ВРС и ИМТ разрушает существование высоких значений ИАГ, поскольку если создать группу с нормальным уровнем ИАГ (убрать из рассмотрения эти выбросы), признаки отрицательной связи между ВРС и ИМТ усилятся ( $r = -0,170$ ;  $p = 0,073$ ). При исключении влияния ЧСС (корреляция ВРС – ИМТ при условии «одинаковости» ЧСС) регистрируется устойчивая значимая умеренная отрицательная корреляция ( $r = -0,274$ ;  $p = 0,005$ ; частная корреляция).

Было установлено снижение ВРС у храпящих детей: 108 против 117 мс (различия не достигают статистической значимости, но зафиксирована тенденция;  $p = 0,06$ ). Дополнительный анализ позволил уточнить специфику связи ВРС с ИАГ. Ниже представлена диаграмма разброса, где видно, что показатель ИАГ имеет специфическое распределение. Несколько значений, выбивающихся в большую сторону из основной массы, принадлежат пациентам с выраженными нарушениями дыхания во сне, храпом. Это дети из групп ИВиО и ПЛО. Характерно, что у этих детей ( $n = 7$ ) с тяжелой формой СОАС (ИАГ более 10 событий/ч) связь с ВРС с ИАГ положительная и очень сильная ( $r = 0,860$ ;  $p = 0,014$ ), тогда как в группе значений ИАГ, близких к норме ( $\leq 1$  событие/ч) коэффициент корреляции близок к нулю и незначим (рис. 6).

#### Дополнительные результаты исследования

##### Непрерывное мониторирование глюкозы

У 14 детей с разной степенью СОАС нами была применена система непрерывного мониторирования глюкозы (СНМГ). Из 9 детей с ИВиО и ростом выше среднего у 8 были выявлены эпизоды ночной гипогликемии ниже заданного порогового уровня (3,3 ммоль/л), у 1 ребенка — до порогового уровня. При нормальном росте снижение содержания глюкозы до порогового уровня имело место у 2 детей с ИВиО, а у 2 детей с нормальным и 1 с избыточным весом содержание глюкозы в крови было высоконормальным (5–6 ммоль/л) с последующим недостаточным снижением в ночное время. Корреляционный анализ ИАГ и минимального уровня гликемии показал значимую обратную связь ( $r = -0,772$ ;  $p = 0,001$ )

(рис. 7). При большем ИАГ наблюдали также максимальные продолжительность и число эпизодов гипогликемии (табл. 4).

Значимых связей роста и ИМТ с гипогликемией получено не было, вероятно, ввиду малого размера выборки, однако только при ИВиО и росте выше среднего ( $>1SD$ ) были отмечены гипогликемические периоды в ночные и предутренние часы.

#### Обсуждение

Результаты исследования показали, что дети с ПЛО и ИВиО с СОАС являются группой риска по развитию ССЗ.

Методом ПСГ проведено исследование ночного сна у детей. Несмотря на то, что 85% обследуемых предъявляли разнообразные жалобы на нарушение сна, данные анкет-вопросников, заполняемых родителями, показали недооценку родителями нарушений сна у детей. Проблема пониженного внимания родителей к качеству сна ребенка уже была отмечена, и она пока сохраняется [9]. Так, объективно подтвержденные по результатам ПСГ нарушения дыхания во сне у ребенка были изначально известны только родителям каждого второго ребенка. Применение вопросников сна у детей с патологиями показало, что наиболее частыми жалобами были нарушение дыхания во сне (57%) и повышенная дневная сонливость (47%). На храп жаловались 42% пациентов. У всех групп патологий была обнаружена нарушенная структура сна в виде сокращения фазы REM-сна. Также отмечалось сокращение фазы медленного сна ( $S_3-S_4$ ) или увеличение представленности поверхностного ( $S_1$ ) сна. Храп как один из основных признаков нарушения дыхания во сне, «разрушитель» REM-сна, зарегистрирован у детей во всех группах патологий. Однако анализ всей выборки по параметру индекса массы тела показал, что значимо чаще храпели дети с повышенным ИМТ. Наиболее выраженные изменения дыхания во время сна в виде повышения ИАГ, одного из главных критериев оценки тяжести СОАС, наблюдали у детей с ИВиО и при ПЛО, что согласуется с данными других исследователей [2, 6, 7].

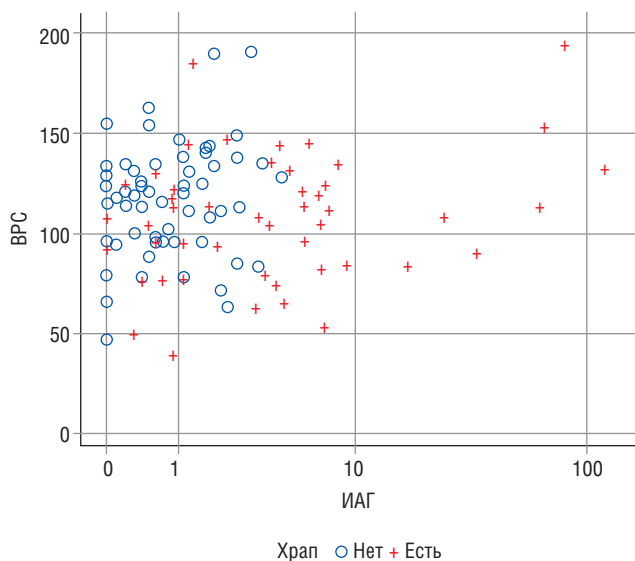


Рис. 6. Вариабельность ритма сердца (BPC, мс), индекс апноэ / гипопноэ ИАГ (событий в час) у детей с храпом и без, логарифмическая шкала.

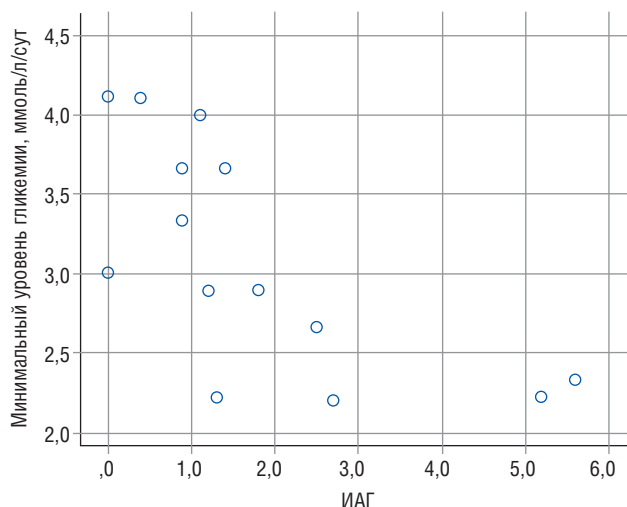


Рис. 7. Минимальное значение уровня гликемии (ммоль/л в сут) и индекс апноэ / гипопноэ (ИАГ, событий в час).

38

Таблица 4. Параметры минимальной гликемии и показатель ИАГ у детей (n = 14)

| Параметры   | min | max  | M   | SD   |
|---|-----|------|-----|------|
| Минимальное значение уровня гликемии, ммоль/л в сут           | 2,2 | 4,1  | 3,1 | 0,7  |
| Максимальная продолжительность периодов гипогликемии, % в сут | 0,0 | 41,0 | 7,6 | 12,4 |
| Число эпизодов гипогликемии                                   | 0,0 | 5,0  | 1,5 | 1,6  |
| Индекс апноэ / гипопноэ, событий/сут                          | 0,0 | 33,0 | 3,9 | 8,2  |

До сих пор в педиатрическом сообществе не достигнут консенсус по поводу отбора пациентов, подлежащих обследованию методом ПСГ, и решение о его проведении зачастую принимают спонтанно [7, 8]. Тем не менее было установлено, что для патогенеза детского СОАС характерно развитие прерывистой гипоксемии с нарушением нормальной вегетативной и гемодинамической реакции организма на сон [7]. Эпизоды гипоксемии при СОАС приводят к активации катехоламинергических структур, повышению ЧСС и снижению BPC [13, 21, 22]. Сатурация кислородом в нашем исследовании была снижена в группе с ПЛО по сравнению с другими группами патологий ( $p = 0,009$ ). ЧСС была статистически значимо повышена в группах с ПЛО и ИВиО ( $p = 0,002$ ).

Для оценки вегетативных нарушений у детей наиболее доступен, изучен и используется показатель BPC, снижение которого рассматривают как признак повышения активности симпатического звена вегетативной нервной системы и нарушения автономной регуляции сердца [8, 22]. Мы проанализировали BPC у детей в зависимости от ЧСС, ИМТ, ИАГ. При анализе в общей выборке ( $n = 120$ ) была получена отрицательная связь между BPC и ЧСС ( $r = -0,405$ ;  $p < 0,001$ ), признаки слабой отрицательной связи между BPC и ИМТ ( $r = -0,143$ ;  $p = 0,130$ ). Мы не обнаружили связи между BPC и ИАГ при СОАС легкой и средней степени тяжести (ИАГ менее 10 событий/ч), однако у небольшой группы детей ( $n = 7$ ) с тяжелым СОАС (ИАГ более 10 событий/ч) BPC имела сильную значимую положительную связь с ИАГ ( $r = 0,860$ ;  $p = 0,014$ ). На фоне тяжелых форм СОАС гипоксия, гипокания, нарушение внутригрудного давления, возможно, приводят к более сложному симпатико-парасимпатическому дисбалансу и, как следствие, повышению BPC [23].

Связи ожирения с нарушением дыхания во сне (СОАС) посвящены многие исследования [6, 10]. В нашем исследовании в группе ИВиО было 53% детей с ростом выше среднего. Высокорослость при ожирении связывают с инсулинорезистентностью и риском развития ССЗ [13, 15, 16]. У детей с диабетом в ночное время были выявлены периоды гипогликемии, которые сопровождались признаками нестабильности миокарда, предикторами жизнеугрожающих аритмий [12]. Мы провели анализ гликемии у детей с СОАС в ночное время методом СМГ в тканевой жидкости. Из 14 обследованных только у 8 человек обнаружены гипогликемические периоды, и это были дети с повышенным ИМТ и ростом выше среднего. Периоды снижения гликемии регистрировали в ночные или предутренние часы, наиболее характерные для периодов апноэ / гипопноэ. Этот результат свидетельствует о дополнительно выявленных рисках развития ССЗ у детей на фоне СОАС в группе с повышенным ИМТ и ростом выше среднего.

**Краткие практические рекомендации**

Необходимо выявлять СОАС у детей с целью его коррекции и, соответственно, профилактики развития ССЗ у детей. Сведения, полученные от родителей, не всегда отражают истинное состояние ночного сна у ребенка, поэтому необходимо помнить, что дети с ИВиО и ПЛО наиболее подвержены СОАС. У детей с СОАС с повышенным ИМТ и ростом выше среднего дополнительно должен исследоваться гликемический профиль для исключения гипогликемических ночных эпизодов с целью осуществления индивидуального подхода к профилактике ССЗ. На рис. 8 представлена схема алгоритма обследования детей группы риска по СОАС для ранней профилактики развития сердечно-сосудистой патологии.

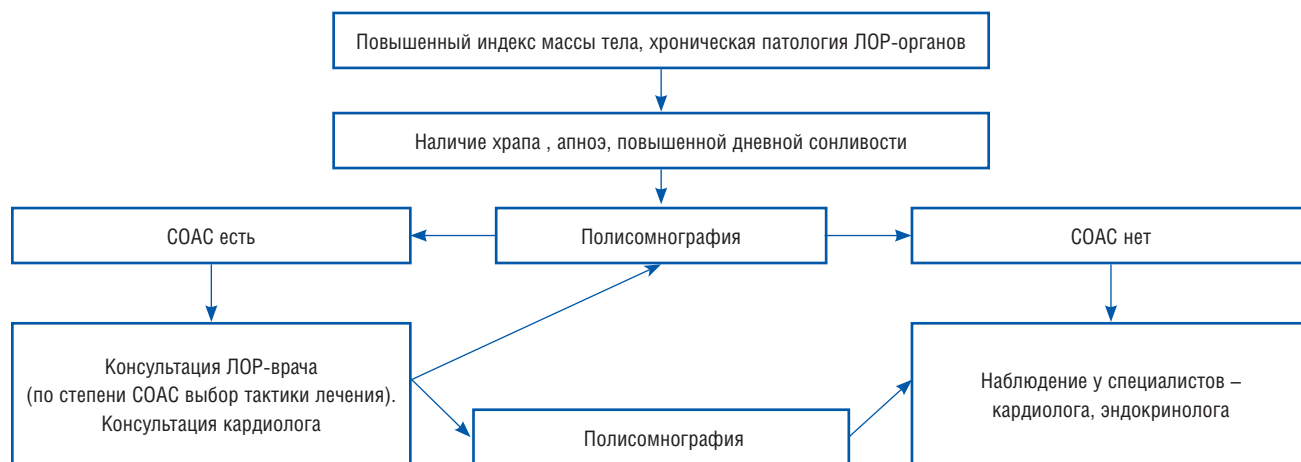


Рис. 8. Алгоритм обследования детей группы риска по развитию синдрома обструктивного апноэ сна (СОАС) для ранней профилактики развития сердечно-сосудистой патологии.

### Ограничения исследования

Немногочисленность групп детей, обследованных методами ПСГ и СНМГ, связана прежде всего со сложностью, трудоемкостью и временной и финансовой затратностью этих исследований. Также сложно мотивировать родителей на проведение длительного ночного исследования (ПСГ) вне дома, тем более что зачастую родители не знают о нарушениях дыхания у ребенка во время ночного сна. До сих пор не разработаны стандартные критерии направления врачами детей на ПСГ с целью исключения СОАС. Метод СНМГ, валидированный на гипогликемические состояния, применяется в настоящее время у детей при диабете.

У детей с патологией ЛОР-органов и/или с повышенным индексом массы тела при нарушении дыхания во время сна формируются предпосылки для развития сердечно-сосудистой патологии. Кроме этого, дети с повышенным индексом массы тела и ростом выше среднего имеют дополнительные риски развития сердечно-сосудистых заболеваний на фоне синдрома обструктивного апноэ сна вследствие скрытых эпизодов гипогликемии в ночное время. Раннее выявление синдрома обструктивного апноэ сна у детей, профилактика избыточного веса и ожирения, а также ночной гипогликемии должны быть включены в алгоритм предупреждения развития сердечно-сосудистой патологии у детей.

### Заключение

Родители каждого второго ребенка, имеющего нарушения дыхания во время сна, не подозревают об этом, поэтому субъективные сведения о качестве сна у ребенка, полученные от родителей, могут быть неверны.

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов А.А. Состояние здоровья детей в Российской Федерации. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2012; 91 (3): 9–14.
2. Мадаева И.М., Шевырталова О.Н., Долгих В.В. Артериальная гипертензия и нарушения дыхания во время сна в педиатрии: Результаты пилотного исследования. *Системные гипертензии*. 2009; 2: 24.
3. Калинин А.Л. Синдром обструктивного апноэ сна — фактор риска артериальной гипертензии. *Артериальная гипертензия*. 2003; 2: 37–41.
4. Kuyoshi F.H.S., Garsia-Touchard A., Gami A.S., Romero-Corral A., Walt C., Pusalavidyasagar S., Kara T., Caples S.M., Pressman G.S., Vasquez E.C., Lopes-Jimenez F., Somers V.K. Day-night variation of acute myocardial infarction in obstructive sleep apnea. *JACC*. 2008; 52 (5): 343–346.
5. Cunningham S.A., Kramer M.R., Venkat Narayan K.M. Incidence of Childhood Obesity in the United States. *New Engl. J. Med*. 2014; 370 (5): 403–411.
6. Струева Н.В., Полуэктов М.Г., Савельева Л.В., Мельниченко Г.А. Ожирение и сон. *Ожирение и метаболизм*. 2013; 3: 11–19.
7. Mindell J.A., Owens J.A. Pediatric sleep. Diagnosis and management of sleep problems. *Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins*. 2010. 232 p.
8. Verhulst S.L., de Backer W. OSA syndrome in children. *Eur. Respir. Mon*. 2010; 50: 104–120.
9. Montgomery-Downs H.E., O'Brien L.M., Holbrook R., Gozal D. Snoring and sleep-disordered breathing in young children: subjective and objective correlates. *Sleep*. 2004; 27 (87): 94.
10. Кобалава Ж.Д. Современные проблемы артериальной гипертензии. Метаболический синдром, современные представления. URL: <http://www.cardiosite.info/articles/article.aspx?articleid=1379> (дата обращения: 15.11.2014).
11. Hoi-Hansen T., Pedersen-Bjergaard U., Thorsteinsson B. Reproducibility and reliability of hypoglycaemic episodes recorded with Continuous Glucose Monitoring System (CGMS) in daily life. *Diabet Med*. 2005; 22 (7): 858–862.
12. Лаптев Д.Н., Рябыкина Г.В. Аритмогенное действие гипогликемии, регистрируемое при длительном мониторинговании ЭКГ у детей и подростков с сахарным диабетом 1 типа. *Кардиология. Сахарный диабет*. 2013; 4: 66–71.
13. Gill G.V., Woodward A., Casson I.F., Weston P.J. Cardiac arrhythmia and nocturnal hypoglycaemia in type 1 diabetes — the 'dead in bed' syndrome revisited. *Diabetologia*. 2009; 52 (1): 42–45.
14. Inkster B., Riha R.L., Van Look L., Williamson R., McLachlan S., Frier B.M., Strachan M.W., Price J.F., Reynolds R.M. Association

- between excessive daytime sleepiness and severe hypoglycemia in people with type 2 diabetes: the Edinburgh Type 2 Diabetes Study. *Diabetes Care*. 2013; 36 (12): 4157–4159.
15. Wells J., Cole T. Height, adiposity and hormonal cardiovascular risk markers in childhood: how to partition the association? *Int. J. Obesity*. 2014; 24.
  16. Ljungkrantz M., Ludvigsson J., Samuelsson U. Type 1 diabetes: increased height and weight gains in early childhood. *Pediatr. Diabetes*. 2008; 9: 50–56.
  17. Capuccio F., Taggart F., Kandala N., Currie A., Peile E., Strangers S., Miller A. Sleep duration predicts cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *UK Sleep*. 2008; 31 (5): 619–626.
  18. Абашидзе Э.А. Оценка качества сна у детей с соматической патологией и болезнями нервной системы Автореф. дис. ...канд. мед. наук. М. 2012. 25 с.
  19. International classification of sleep disorders, revised. Diagnostic and coding manual. American Sleep Disorders Association. *Rochester*. 1997. 401 p.
  20. American Academy of Sleep Medicine. The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications. Version 2.0. 2012. URL: <http://www.aasmnet.org/scoringmanual/default.aspx> (Available: 15.11.2014).
  21. Somers V.K., White D.P., Amin R., Abraham W.T., Costa F., Culterbas F., Daniels S., Floras J.S., Hunt C.E., Olson L.J., Pickering T.G., Russe R., Woo M., Yuoung T. Sleep apnea and cardiovascular disease. *JACC*. 2008; 52 (8): 686–717.
  22. Muzumdar H.V., Sin S., Nikova M., Gates G., Kim D., Arens R. Changes in heart rate variability after adenotonsillectomy in children with obstructive sleepapnea. *Chest*. 2011; 139 (5): 1050–1059.
  23. O'Brien L.M., Gozal D. Autonomic dysfunction in children with sleep-disordered breathing. *Sleep*. 2005; 28 (6): 747–752.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Кожевникова Ольга Викторовна**, кандидат медицинских наук, заведующая отделением инструментальной и лабораторной диагностики КДЦ НИИ ППиВЛ Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: fd@nczd.ru

**Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна**, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора — директор НИИ ППиВЛ Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: namazova@nczd.ru

**Абашидзе Эка Амирановна**, кандидат медицинских наук, врач отделения инструментальной и лабораторной диагностики детей Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: 2803abashidze@mail.ru

**Алтунин Виктор Викторович**, кандидат медицинских наук, врач отделения инструментальной и лабораторной диагностики Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: altuninv1@gmail.com

**Балабанов Антон Сергеевич**, кандидат социологических наук, научный сотрудник отдела социальной педиатрии Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (965) 314-16-33, e-mail: a-balabanov@yandex.ru

**Широкова Ирина Владимировна**, кандидат медицинских наук, врач-эндокринолог клинического отделения Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: shirokova@nczd.ru

**Кондрахина Ирина Ивановна**, врач-лаборант отделения инструментальной и лабораторной диагностики Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: <matakovax@mail.ru

**Полунина Татьяна Андреевна**, кандидат медицинских наук, заведующая ОВЛД с болезнями ЛОР-органов и челюстно-лицевой области Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-08-41, e-mail: tapolunina@rambler.ru

**Маргиева Теа Валиковна**, кандидат медицинских наук, заведующая ОВЛД с нефроурологическими заболеваниями, ожирением и метаболическими болезнями Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 132-28-80, e-mail: pedpharm@nczd.ru



С.Г. Макарова<sup>1, 2</sup>, Л.С. Намазова-Баранова<sup>1, 2, 3</sup>, Е.А. Вишнёва<sup>1</sup>, А.К. Геворкян<sup>1, 2</sup>, А.А. Алексеева<sup>1, 2</sup>,  
М.И. Петровская<sup>1, 2</sup>

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

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.А. Сеченова, Российская Федерация

<sup>3</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва,  
Российская Федерация

## Актуальные вопросы диагностики пищевой аллергии в педиатрической практике

*Пищевая аллергия (ПА) у детей, особенно в раннем возрасте, до сих пор остается существенной проблемой здравоохранения. Тяжесть течения и прогноз заболеваний, связанных с ПА, во многом зависят от правильной и своевременной диагностики данной патологии, а также от дальнейшей тактики ведения ребенка. При этом как несвоевременное назначение элиминационной диеты, так и неоправданная диета или ее слишком длительное соблюдение могут являться ошибочной тактикой ведения пациента, негативно влияя на развитие и снижать качество жизни ребенка. В статье кратко изложены современные практические подходы к диагностике ПА, основанные на доказательной медицине и принятые в качестве европейских и отечественных согласительных документов, а также на собственном опыте ведения больных с данной патологией. Диагностика ПА у ребенка, как правило, включает в себя проведение лабораторных исследований и выяснение клинико-анамнестических данных. К сожалению, часто приходится сталкиваться с тем, что предпочтение отдается лабораторным методам диагностики, которые основаны на определении специфических IgE или кожных пробах. Однако основой идентификации причинно-значимого аллергена остается детальный сбор анамнестических данных, который вместе с клинической картиной заболевания до сих пор является наиболее надежным инструментом диагностики ПА.*

**Ключевые слова:** пищевая аллергия, дети, пищевая толерантность, специфические IgE, элиминационная диета.  
(Вестник РАМН. 2015; 1: 41–46)

41

### Введение

Пищевая аллергия (ПА) — это вызванная приемом пищевого продукта побочная (патологическая) реакция, в основе которой лежат иммунные механизмы, включая специфические реагиновые (IgE-опосредованные), иммунокомплексные реакции и клеточный иммунный ответ (неIgE-опосредованные реакции) или их сочетание (реакции смешанного типа).

Цель настоящего краткого обзора — анализ последних согласительных документов, посвященных диагностике и тактике ведения больных с ПА, и обсуждение наиболее

актуальных вопросов их применения в практике педиатра. По данным European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) [1], в среднем в европейских странах 17,3% населения имеет какие-либо проявления ПА на протяжении жизни. При этом повышенная концентрация специфических IgE к пищевым продуктам определяется у 12,2% детей и подростков (в возрасте до 18 лет) и у 4,1% взрослых [2]. Кожные пробы с пищевыми аллергенами положительны у 3,6% детей и подростков. Сочетание клинических проявлений ПА с повышенным уровнем IgE к соответствующим пищевым белкам определяется у 3,6% детей и 2,2% взрослых. Однако очевидным явля-

S.G. Makarova<sup>1, 2</sup>, L.S. Namazova-Baranova<sup>1, 2, 3</sup>, E.A. Vishneva<sup>1</sup>, A.K. Gevorkyan<sup>1, 2</sup>, A.A. Alekseeva<sup>1, 2</sup>,  
M.I. Petrovskaya<sup>1, 2</sup>

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

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

<sup>3</sup> N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

### Topical Issues of Food Allergy Diagnosis in Pediatric Practice

*Food allergy (FA) in children, especially in infancy, is still a significant public health problem. The severity and prognosis of disease progression associated with FA considerably depends on the correct and early diagnostics of this pathology, as well as on the following management of a child. At the same time delayed elimination diet administration, unreasonable or overlong dietary intervention might have become abuse management of a patient and have a negative impact on the development of a child and reduce the quality of life. The article summarizes the current practical approaches to the diagnosis of FA based on evidence-based medicine and adopted European and Russian national consensus documents, as well as on our own experience of management of patients with this pathology. FA diagnosis in a child usually includes clinical laboratory tests and clarification of clinical and anamnestic data. Unfortunately, it is a fact that preference is given to laboratory methods for diagnosis based on specific IgE determination or skin samples. However, the basis for cause-significant allergen identifying is detecting detailed medical history and clinical picture of a disease which still appears to be the most reliable tool for FA diagnosis.*

**Key words:** food allergy, children, food tolerance, specific IgE, elimination diet.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 41–46)

ется тот факт, что в последние 10 лет отмечается значительный рост распространенности состояний, связанных с нарушением толерантности к пище [3].

В роли пищевых аллергенов могут выступать любые вещества белковой природы, входящие в состав пищевых продуктов, а также содержащиеся в продуктах гаптены. Однако выделяют так называемую большую восьмерку продуктов, наиболее часто вызывающих аллергические реакции [1, 3, 4]. В нее входят коровье молоко, куриное яйцо, соя, арахис, орехи, пшеница, морепродукты и рыба. В исследованиях, проведенных в различных странах мира, показано, что вне зависимости от места проживания, 1-е и 2-е место по «аллергенности» у детей раннего возраста занимают куриные яйца и коровье молоко, 3-е место — продукты, широко используемые в питании населения отдельно взятой страны [5].

Пищевые аллергены могут изменять свои антигенные свойства в процессе кулинарной обработки продуктов. Так, денатурация белка в процессе нагревания продукта приводит к тому, что одни продукты теряют аллергенность, а другие, напротив, становятся более аллергенными. Имеет также значение количество поступивших во внутреннюю среду белковых молекул. Несостоятельность барьерной функции желудочно-кишечного тракта приводит к избыточному контакту иммунокомпетентных клеток с активно всасывающимися белковыми антигенами и сенсибилизации. Вскармливание молочными смесями в первые месяцы жизни, приводящее к чрезмерному поступлению чужеродного белка на фоне незрелости кишечного барьера и иммунного ответа приводит к ранней сенсибилизации к белку коровьего молока [6, 7]. Большое значение высокая кишечная проницаемость имеет в патогенезе ПА у детей раннего возраста, а также на фоне различных заболеваний, сопровождающихся повреждением кишечного эпителия — в первую очередь, острых вирусных и бактериальных энтеритов [8–10].

ПА сама по себе не является нозологической формой, а представляет патогенетический механизм формирования определенных заболеваний или симптомов и, соответственно, не является нозологическим диагнозом. Тем не менее наличие ПА целесообразно включать в полный клинический диагноз после обозначения основной нозологической формы. При наличии атопического дерматита,

согласно Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), выставляется основной диагноз L20.8, а далее может быть указана сенсибилизация. При аллергической крапивнице, обусловленной пищевой сенсибилизацией, диагноз будет звучать как «Аллергическая крапивница L50.0, пищевая аллергия». В тех случаях, когда характер кожных проявлений не соответствует типичной картине хронического воспаления, имеющегося при атопическом дерматите, или не является типичным проявлениям крапивницы, для обозначения диагноза ПА может быть использован код МКБ L27.2 («Пищевая аллергия — дерматит, вызванный съеденной пищей»), при гастроинтестинальных проявлениях — K52.2 («Аллергический и алиментарный гастроэнтерит и колит») [4].

Тяжесть течения и прогноз заболеваний, связанных с ПА, во многом зависят от правильной и своевременной диагностики данной патологии. Однако необходимо помнить, что неоправданная диета или ее слишком длительное соблюдение могут оказаться ошибочной тактикой ведения пациента, негативно влиять на развитие и снижать качество жизни ребенка, а также увеличивать финансовую нагрузку на семью [1].

Цель данной статьи — представить краткое изложение современных практических подходов к диагностике ПА, основанных на доказательной медицине и принятых в качестве международных [1, 5, 11] и отечественных [4, 12] согласительных документов, а также базирующихся на собственном опыте ведения больных с данной патологией [12, 13].

## Диагностика

В настоящее время единого общепризнанного диагностического теста, на основании которого может быть поставлен диагноз ПА, не существует [1]. Диагноз ставят на основании положительного аллергологического анамнеза, данных клинической картины заболевания, результатов специфического аллергологического обследования с пищевыми аллергенами, а также на основании полного исчезновения симптомов после назначения элиминационной диеты (рис.). При этом главную роль отводят анамнезу и диагностической диете.

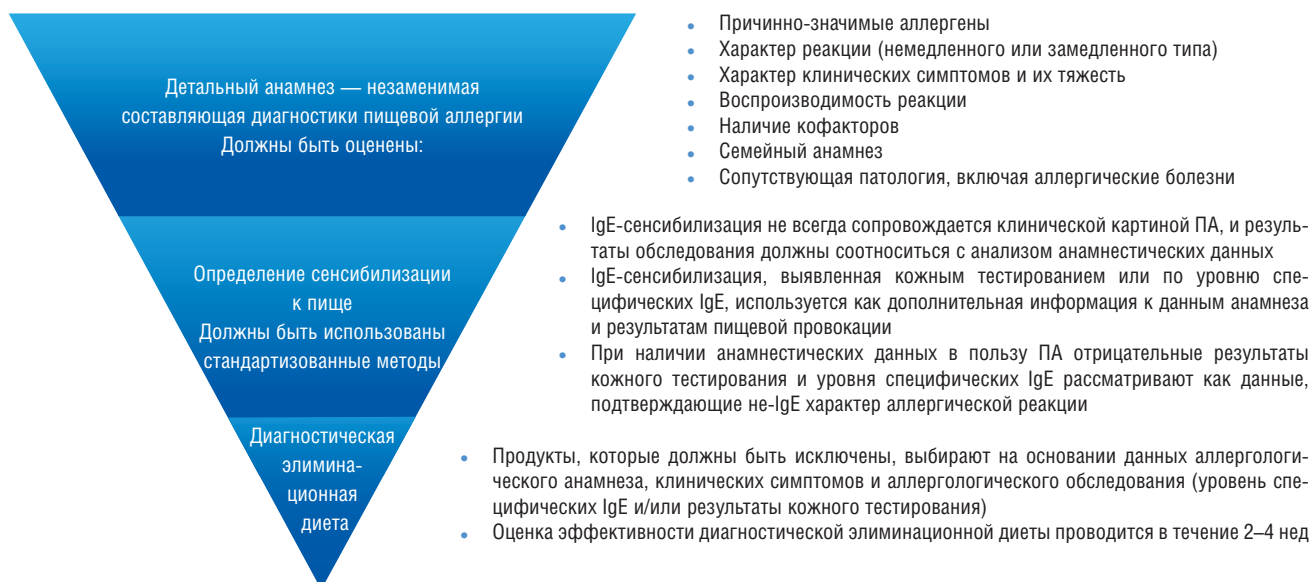


Рис. Комплексный подход при диагностике пищевой аллергии.

**Таблица 1.** Ключевые вопросы, которые необходимо задать респонденту в случае подозрения у него пищевой аллергии [1]

|  |  |
|--|--|
| Описание симптомов пищевой аллергии, вызванных приемом продукта            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Какие именно отмечались симптомы и как долго наблюдались?</li> <li>• Какое лечение было назначено?</li> <li>• Через какое время симптомы купировались?</li> </ul>   |
| Выявление пищевого аллергена   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Какие продукты вызывают реакцию?</li> <li>• Характерен ли предполагаемый аллерген для возраста пациента, а также типичен ли он для данной местности?</li> </ul>   |
| Время появления реакции после контакта с аллергеном                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>• В течение какого времени после контакта с предполагаемым аллергеном / продуктом развилась реакция?</li> </ul>   |
| Повторяемость симптомов  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Носят ли симптомы рецидивирующий характер?</li> </ul>   |
| Способ приготовления продукта  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• На что развилась реакция: на приготовленный продукт или продукт в сыром виде?</li> </ul>  |
| Способ попадания аллергена в организм                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Каким образом произошло попадание аллергена в организм?</li> </ul>  |
| Количество аллергена   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Какое количество продукта вызвало реакцию?</li> </ul>   |
| Сопутствующие заболевания  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Есть ли у пациента сопутствующие заболевания, включая атопические болезни?</li> </ul>   |
| Сопутствующие факторы  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Были ли у пациента физическая нагрузка, прием алкоголя* или лекарственных средств до или после употребления причинно-значимого продукта?</li> </ul>   |
| Реактивность в отношении родственных продуктов и перекрестная реактивность | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Наблюдается ли реакция к родственным продуктам, или пациент к ним толерантен?</li> <li>• Отмечается ли у пациента перекрестная аллергия между ингаляционными и пищевыми аллергенами?</li> <li>• Есть ли у пациента аллергия на латекс?</li> </ul> |
| Другие продукты  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Может ли пациент употреблять ... (перечислить продукты)?</li> </ul>   |
| Соблюдаемая диета  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Влияет ли наличие пищевой аллергии на дневной рацион?</li> </ul>  |
| Элиминационные диеты в анамнезе  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Соблюдал ли пациент элиминационные диеты ранее? Если да, то было ли это эффективно?</li> </ul>  |

*Примечание.* \* — для старших школьников.

**Анамнез**

Детальный сбор анамнестических данных — ключ к диагностике ПА. Должны быть оценены семейный анамнез (случаи аллергических заболеваний и реакций), а также случаи непереносимости продуктов. По возможности необходимо определить связь симптомов аллергии с употреблением определенных продуктов, характер реакции (немедленного или замедленного типа). При этом следует обращать внимание на все возможные клинические признаки, включая кожные, гастроинтестинальные симптомы, респираторные проявления, а также такие общие симптомы, как отказ от еды, «избирательный аппетит». Важно учитывать наличие реакции при повторном введении продукта, наличие сопутствующих факторов (заболевания, физическая нагрузка и др.). Целесообразно использование структурированного опросника (табл. 1).

В случаях отсутствия четких реакций на пищу, что часто встречается при множественной ПА замедленного типа, следует рекомендовать ведение пищевого дневника (табл. 2).

**Таблица 2.** Пример пищевого дневника

Пищевой дневник

Дата \_\_\_\_\_

| Время приема пищи | Продукты<br>Напитки<br>Лекарственные препараты | Время появления симптомов | Характер симптомов и их продолжительность |
|-------------------|--|---------------------------|---|
|-------------------|--|---------------------------|---|

На основании данных детального анамнеза врач должен сделать предварительное заключение об IgE-опосредованном или не-IgE-опосредованном характере реакций и назначить соответствующее обследование.

При наличии четких анамнестических данных о развитии острых симптомов, жизнеугрожающих реакций, связанных с приемом определенных продуктов, диагноз ПА может быть поставлен до получения окончательных результатов обследования [1]

**Определение содержания специфических IgE и кожное тестирование**

Определение содержания специфических IgE к пищевым белкам — метод диагностики IgE-опосредованной ПА. При этом положительные результаты тестирования свидетельствуют только о наличии IgE-сенсibilизации и должны интерпретироваться в контексте анамнестических данных. И, напротив, отсутствие специфических IgE не исключает диагноза ПА. Для выявления специфических антител класса E к пищевым аллергенам должны быть использованы стандартизованные методы. Диагностическая значимость концентрации специфических IgE зависит от возраста больных. Как правило, для детей раннего возраста клинически значимыми являются более низкие уровни специфических IgE. Так, у детей младше 2 лет уровни специфических IgE к молоку 5 кЕд/л и куриному яйцу 2 кЕд/л уже обладают 95% диагностической значимостью.

Кожное тестирование распространено в клинической практике, эффективно в диагностике IgE-опосредованной ПА и также является методом, позволяющим подтвердить наличие сенсibilизации. По разным данным, чувствительность кожных проб с пищевыми аллергенами зависит от вида аллергена и составляет 70–100% [1, 14, 15]. Специфичность метода составляет 40–70% в сравнении с двойной слепой плацебоконтролируемой пробой и также отличается в зависимости от аллергена [1, 15]. Кожные пробы должны выполняться квалифицированным персоналом с использованием стандартных аллергенов. Как и результаты определения специфических IgE, результаты кожных проб интерпретируют в соответствии с данными анамнеза, результатами элиминационной диеты и провокационной пробы. Противопоказаниями

к кожному тестированию являются наличие в анамнезе анафилактических реакций, прием H<sub>1</sub>-блокаторов или топических глюкокортикоидов, выраженное обострение аллергического заболевания, возраст до 2 лет.

Обнаружение повышенного содержания антител класса E к белкам коровьего молока не является обязательным критерием диагностики, а лишь подтверждает IgE-опосредованный характер реакции, определяет длительность элиминации белков и прогноз формирования толерантности. Отсутствие диагностически значимого уровня IgE к белкам коровьего молока не исключает диагноза аллергии к ним, а лишь указывает на не-IgE-опосредованный характер реакции, при этом последнее слово в диагностике остается за анамнезом и элиминационно-провокационными пробами

### Провокационные пробы

Существуют открытая простая элиминационно-провокационная проба и двойная слепая плацебоконтролируемая проба с пищевыми продуктами, являющаяся «золотым стандартом» диагностики ПА [1, 15]. Противопоказанием для проведения открытой пероральной пробы являются взаимосвязь анафилаксии или тяжелых системных реакций в анамнезе с употреблением продуктов (даже при отсутствии специфических IgE к соответствующему аллергену), обострение аллергического заболевания, высокая (95%) вероятность положительной провокационной пробы (по данным кожного тестирования и/или уровню специфических IgE). Все провокационные пробы в Российской Федерации не сертифицированы, поэтому решающая роль остается за методами диетодиагностики.

### Диагностическая элиминационная диета

Диагностическая элиминационная диета является универсальным методом, позволяющим подтвердить диагноз как при IgE-опосредованных, так и при не-IgE-опосредованных формах ПА [1, 11, 12].

В случае, если имеются клинически значимые симптомы и вероятно аллергия к определенному белку, назначают диагностическую элиминационную диету с исключением продуктов, содержащих данный белок. При подозрении на аллергию к белкам коровьего молока у ребенка, находящегося на грудном вскармливании, из рациона матери исключают все молочные продукты и говядину. При искусственном вскармливании в качестве элиминационной диагностической диеты назначают смеси на основе высокогидролизованного белка или аминокислотные смеси [11, 12, 16]. Срок диагностической диеты зависит от клинической картины и должен быть достаточно длительным, чтобы оценить исчезновение или стабилизацию клинических симптомов. Продолжительность может колебаться от 3–5 дней у детей с клиническими реакциями немедленного типа (например, ангионевротический отек, рвота, возникновение экземы в течение 2 ч) до 1–2 нед и более у детей с отсроченными и хроническими реакциями (например, атопический дерматит). У пациентов с желудочно-кишечными симптомами (к примеру, хронической диареей, задержкой роста) для оценки ответа на элиминационную диету может потребоваться до 4 нед [11, 12].

При подозрении на множественную ПА на диагностический период назначают гипоаллергенную диету (диета № 5 ГА) [17], из которой могут быть исключены также все подозреваемые продукты. Целесообразно ведение пищевого дневника.

### Эндоскопическое исследование

Пациентам с выраженными и стойкими жалобами со стороны желудочно-кишечного тракта, задержкой развития или железодефицитной анемией, которые не удается объяснить другими причинами, показано эндоскопическое исследование верхних и нижних отделов желудочно-кишечного тракта с морфологическим исследованием биоптатов. Однако макроскопические и гистологические изменения, такие как атрофия слизистой оболочки или эозинофильная инфильтрация, не являются специфичными или чувствительными признаками ПА. Соответственно, основная диагностическая их значимость заключается в проведении дифференциальной диагностики с другими заболеваниями, в первую очередь с целиакией. Полученные результаты необходимо оценивать в контексте данных анамнеза и эффективности диагностической диеты [1, 12].

### Дифференциальная диагностика

Дифференциальную диагностику проводят прежде всего с другими формами пищевой непереносимости и реакциями на пищу, которые представлены далее.

- Дерматозы другой этиологии.
- Непереносимость пищи ферментная и метаболическая:
  - непереносимость лактозы;
  - мальабсорбция углеводов.
- Целиакия.
- Токсические реакции на пищу:
  - бактериальные;
  - фармакологические.
- Реакции на пищевые добавки и контаминанты.
- Реакции, не всегда связанные с приемом пищи:
  - синдром раздраженной толстой кишки;
  - воспалительные заболевания толстой кишки.

Реакции на пищу неиммунного характера могут клинически не отличаться от проявлений ПА. Кроме того, они могут сочетаться у одного и того же больного с аллергическими реакциями на пищу, внося свой вклад в общую клиническую картину заболевания. Так, непереносимость лактозы может встречаться как самостоятельное нарушение, но в ряде случаев вторичная лактазная недостаточность сопровождает аллергию к белкам коровьего молока и является признаком аллергического поражения кишечника [18].

В отличие от истинной ПА в патогенезе неиммунных реакций на пищевые продукты не принимают участие реакции антиген–антитело, в основе их развития лежит неспецифическое высвобождение медиаторов (в основном гистамина) из клеток-мишеней аллергии [12].

Наиболее часто неиммунные реакции развиваются после употребления продуктов, богатых гистамином, тирамином, гистаминолибераторами, таких как ферментированные сыры, квашеная капуста, вяленая ветчина, говяжьи сосиски, свиная печень, субпродукты, шпинат, томаты, зрелые сыры (рокфор, камамбер, бри, чеддер), шоколад, бобы какао и др. Классическим примером неиммунных реакций может послужить употребление рыбы с высоким содержанием красного мяса, которое при приготовлении становится коричневым (семейство *Scombridae* — тунец, скумбрия, макрель) и содержит в мышечной ткани большое количество гистидина. При нарушении технологии хранения, охлаждения или замораживания рыбы гистидин под влиянием бактериальной гистидиндекарбоксилазы переходит в гистамин, который

и обуславливает клиническую реакцию вплоть до развития так называемого гистаминового шока [12].

В шоколаде, продуктах, подвергаемых ферментированию (например, в сырах, ферментированных бобах, какао), содержится вазоактивный амин бетафенилэтиламин. Такие продукты вызывают у больных симптомы, подобные аллергическим реакциям.

Причиной развития неиммунных реакций на пищевые продукты нередко оказывается не сам продукт, а различные пищевые добавки, вносимые для улучшения вкуса, запаха, цвета, обеспечивающие длительность хранения. К наиболее распространенным пищевым добавкам, нередко приводящим к развитию аллергических и псевдоаллергических реакций, относятся красители (E102, E104, E120, E122, E124, E132, E133, E155 и др.), сульфиты (E220–227), нитриты (E249–E 252), глутаматы (E621–E625).

Возможны также реакции гиперчувствительности на такие контаминанты, как пестициды; фторсодержащие, хлорорганические и сернистые соединения; антибиотики, продукты микробного метаболизма, грибки и т.д., особенно при содержании их в количествах, превышающих допустимые.

#### **Тактика ведения ребенка с пищевой аллергией. Решение о введении в рацион ранее исключенных продуктов**

Вопрос о введении исключенных продуктов в питание ребенка встает не ранее чем через 6 мес полной элиминации. В случаях IgE-опосредованной ПА ориентиром для продолжения элиминационной диеты или расширения рациона может служить уровень специфических IgE [1, 15]. При не-IgE-опосредованных формах ПА продукт вводится в питание под контролем переносимости. Поскольку провокационные пробы в классическом варианте в Российской Федерации не сертифицированы, введение продукта, по сути, становится диагностическим мероприятием.

В связи с этим нам представляется целесообразным введение такого термина, как «диагностическое введение продукта».

#### **Диагностическое введение продукта**

При отсутствии у ребенка в анамнезе тяжелых и жизнеугрожающих реакций на определенный продукт, ему проводят так называемое диагностическое введение продукта.

Количество продукта для первого пробного введения определяют исходя из данных анамнеза (количество продукта, на которое отмечалась реакция, и степень выраженности реакции на это количество). Начинают с дозы, значительно меньше той, которая вызвала реакцию. Срок наблюдения зависит также от характера предыдущего ответа и составляет от 2 ч при реакциях немедленного типа до 2 сут при реакциях замедленного типа в анамнезе.

Если на первое диагностическое введение продукта никаких отрицательных ответов не зарегистрировано, его вводят в питание в постепенно возрастающих количествах с обязательной регистрацией всех симптомов.

При множественной ПА диагностическое введение ранее исключенных продуктов осуществляют поочередно

симптомов или возникновении новых диагностическое введение признают положительным, и сроки элиминации продукта продлевают минимум на 6 мес.

В результате пробное введение продукта после определенного срока элиминации его из питания становится важным диагностическим мероприятием на этапе расширения рациона.

Таким образом, осуществление комплексного диагностического подхода с упором на детальный анамнез и результаты элиминационной диеты позволяет оптимизировать диагностику пищевой аллергии, а диагностическое введение — клинически оценить толерантность к данному продукту на этапе расширения рациона.

#### **Заключение**

Прогноз заболеваний, этиопатогенетической основой которых является пищевая аллергия, зависит от многих факторов как врожденного характера, так и обусловленных влиянием внешней среды. К тем факторам, на которые мы можем оказать воздействие, относятся ранняя диагностика данной патологии и назначение адекватного лечения, которое в первую очередь определяется правильно подобранной диетой с исключением причинно-значимых аллергенов. В последние годы в мировой медицинской практике проделана огромная работа по анализу эффективности различных диагностических и лечебных подходов при пищевой аллергии, и на основании анализа сделаны выводы и созданы рекомендации для практических врачей. Такими документами для педиатра являются «Рекомендации по диагностике и лечению аллергии к белку коровьего молока» (Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy, DRACMA; Guidelines), изданные Всемирной организацией аллергологов (World Allergy Organization) в 2010 г. [5], рекомендации Европейского общества детских гастроэнтерологов, гепатологов и нутриционистов (European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition, ESPGHAN) «Диагностический подход и ведение младенцев и детей с аллергией к белку коровьего молока», 2012 г. [11], а также опубликованные в 2014 г. наиболее полные «Рекомендации по пищевой аллергии и анафилаксии» Европейской академии аллергии и клинической иммунологии (EAACI) [1]. Ценность этих документов состоит в том, что они обобщают огромный международный клинический опыт и дают конкретные рекомендации для практических врачей. На их основании, а также на основании собственной практики и результатов научных исследований составлены национальные документы «Пищевая аллергия. Руководство для врачей» [4], «Диагностика и лечение аллергии к белкам коровьего молока у детей грудного и раннего возраста: практические рекомендации» [12], утвержденные на Съезде педиатров России в 2014 г., а также рекомендации по ведению детей с пищевой аллергией в «Национальной программе вскармливания детей первого года жизни» [19]. Все перечисленные документы призваны помочь практическому врачу избежать ошибок в диагностике и ведении детей с пищевой аллергией и в результате улучшить качество медицинской помощи детям и прогноз у этой категории пациентов.

#### **Конфликт интересов**

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

## ЛИТЕРАТУРА

- Muraro A., Roberts G., Worm M., Bilo M.B., Brockow K., Fernandez Rivas M., Santos A.F., Zolkipli Z.Q., Bellou A., Beyer K., Bind-slev-Jensen C., Cardona V., Clark A.T., Demoly P., Dubois A.E., Dunn Galvin A., Eigenmann P., Halken S., Harada L., Lack G., Jutel M., Niggemann B., Ruëff F., Timmermans F., Vlieg-Boer-stra B.J., Werfel T., Dhami S., Panesar S., Akdis C.A., Sheikh A. Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines. *Allergy*. 2014; 69: 1026–1045.
- Nwaru B.I., Hickstein L., Panesar S.S., Muraro A., Werfel T., Cardo-na V., Dubois A.E.J., Halken S., Hoffmann-Sommergruber K., Poulsen L.K., Roberts G., Van Ree R., Vlieg-Boerstra B.J. & Sheikh A. on behalf of the EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. The epidemiology of food allergy in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014; 69: 62–75.
- Prescott S., Allen K.J. Food allergy: riding the second wave of allergy epidemic. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2011; 22 (1): 156–160.
- Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Боровик Т.Э., Мака-рова С.Г., Пампура И.Н., Захарова И.Н., Яцык Г.В., Гриба-кин С.Г., Скворцова В.А., Конь И.Я., Турти Т.В., Гмошинская М.В., Вишнёва Е.А., Алексеева А.А., Рославцева Е.А., Звонкова Н.Г., Лукоянова О.Л., Суржик А.В., Сновская М.А., Украинцев С.Е. Под ред. А.А. Баранова, Л.С. Намазовой-Барановой, Т.Э. Боро-вик, С.Г. Макаровой. Пищевая аллергия. Серия «Болезни дет-ского возраста от А до Я». М. 2013. 160 с.
- Diagnosis and rationale for action against cow's milk allergy (DRAC-MA) guidelines. World Allergy Organization. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2010; 21: 1–125.
- de Silva D., Geromi M., Halken S., Host A., Panesar S.S., Muraro A., Werfel T., Hoffmann-Sommergruber K., Roberts G., Car-dona V., Dubois A.E., Poulsen L.K., Van Ree R., Vlieg-Boerstra B., Agache I., Grimshaw K., O'Mahony L., Venter C., Arshad S.H., Sheikh A. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. Primary prevention of food allergy in children and adults: systematic review. *Allergy*. 2014; 69 (5): 581–589.
- Боровик Т.Э., Макарова С.Г., Яцык Г.В., Степанова Т.Н., Гри-бакин С.Г. Роль нарушений барьерной функции кишечника в развитии пищевой аллергии у детей. *Вопросы современной педи-атрии*. 2013; 12 (2): 12–19.
- Liu X., Yang G., Geng X.R., Cao Y., Li N., Ma L., Chen S., Yang P.C., Liu Z. Microbial products induce claudin-2 to compromise gut epithelial barrier function. *PLoS One*. 2013; 8 (8): 68547. Doi: 10.137.
- Bischoff S.C., Barbara G., Buurman W., Ockhuizen T., Schulzke J.D., Serino M., Tilg H., Watson A., Wells J.M. Intestinal permeability — a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol.* 2014; 14: 189.
- DeMeo M.T., Mutlu E.A., Keshavarzian A., Tobin M.C. Intestinal permeation and gastrointestinal disease. *J. Clin. Gastroenterol.* 2002; 34 (4): 385–396.
- Diagnostic approach and management of cow's milk protein allergy in infants and children: ESPGHAN GI committee practical guidelines. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55 (2): 221–229.
- Диагностика и лечение аллергии к белкам коровьего молока у детей грудного и раннего возраста: практические рекоменда-ции. Под ред. А.А. Баранова, Л.С. Намазовой-Барановой, Т.Э. Боровик, С.Г. Макаровой. М.: *ПедиатрЪ*. 2014. 48 с.
- Намазова-Баранова Л.С. Аллергия у детей: от теории к практи-ке. М.: *Союз педиатров России*. 2011. 668 с.
- Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Report of the NIAID Sponsored Expert Panel. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 126 (6): 1–58.
- Eigenmann P.A., Atanaskovic-Markovic M., O'V Hourihane J., Lack G., Lau S., Matricardi P.M., Wahn U., Muraro A., Namazova-Baranova L., Nieto A., Papadopoulos N.G., Réthy L.A., Roberts G., Rudzeviciene O., Wickman M., Host A. Testing children for allergies: why, how, who and when: an updated statement of the European academy of allergy and clinical immunology (EAACI) section on pediatrics and the EAACI-clements von pirquet foundation. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2013; 24 (2): 195–209.
- Luyt D., Ball H., Makwana N., Green M.R., Bravin K., Nasser S.M., Clark A.T.; Standards of Care Committee (SOCC) of the British Soci-ety for Allergy and Clinical Immunology (BSACI). BSACI guideline for the diagnosis and management of cow's milk allergy. *Clin. Exp. Allergy*. 2014; 44 (5): 642–672.
- Организация лечебного питания детей в стационарах. Пос. для врачей. Под ред. А.А. Баранова, К.С. Ладодо. М.: *Эвита-проф*. 2001. 239 с.
- Olivier C.E., Lorena S.L., Pavan C.R., dos Santos R.A., dos Santos Lima R.P., Pinto D.G., da Silva M.D., de Lima Zollner R. Is it just lactose intolerance? *Allergy Asthma Proc.* 2012; 33 (5): 432–446.
- Национальная стратегия по оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации. М.: *Союз педиат-ров России*. 2011. 73 с.

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Макарова Светлана Геннадиевна**, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела по клиническим исследованиям в педиатрии Научного центра здоровья детей, профессор кафедры аллергологии и клинической иммунологии педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 132-26-00, e-mail: sm27@yandex.ru

**Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна**, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора — директор НИИ ППиВЛ Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-14, e-mail: namazova@nczd.ru

**Вишнёва Елена Александровна**, кандидат медицинских наук, заведующая отделом стандартизации и клинической фармакологии Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-03-92, e-mail: vishneva@nczd.ru

**Геворкян Анна Казаровна**, кандидат медицинских наук, врач аллерголог-иммунолог, главный врач КДЦ НИИ ППиВЛ Научного центра здоровья детей, профессор кафедры аллергологии и клинической иммунологии педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 967-14-20, e-mail: gevorgyan@nczd.ru

**Алексеева Анна Александровна**, кандидат медицинских наук, педиатр, врач аллерголог-иммунолог, заведующая отделением ОВЛД с аллергическими болезнями и заболеваниями органов дыхания НИИ ППиВЛ, ассистент кафедры аллергологии и клинической иммунологии педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-02-75, e-mail: aleksaa06@yandex.ru

**Петровская Мария Игоревна**, аспирант кафедр аллергологии и клинической иммунологии педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, врач аллерголог-иммунолог отделения диагностики и восстановительного лечения Научного центра здоровья детей, младший научный сотрудник отдела стандартизации и клинической фармакологии Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-14, e-mail: petrovskaya\_maria@mail.ru

Н.А. Маянский<sup>1, 2</sup>, А.Н. Маянский<sup>3</sup>, Т.В. Куличенко<sup>1, 2</sup>

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

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

<sup>3</sup> Нижегородская государственная медицинская академия, Российская Федерация

## Ротавирусная инфекция: эпидемиология, патология, вакцинопрофилактика

*Диарея остается ведущей причиной инфекционной заболеваемости и смертности детей младше 5 лет. Среди инфекционных агентов, вызывающих диарею, лидирует ротавирус, наряду с которым основными возбудителями являются норовирус, энтеропатогенная и энтеротоксигенная Escherichia coli. Ротавирусы передаются фекально-оральным путем, характеризуются высокой контагиозностью и устойчивостью во внешней среде, что связано с особенностями строения вирусного капсида, обладающего трехслойной структурой. Это облегчает их передачу, особенно в детских коллективах и лечебных учреждениях. Ротавирусная инфекция (пик заболеваемости в странах с умеренным климатом приходится на зимние и весенние месяцы) протекает в виде острого гастроэнтерита с диареей и разной степенью дегидратации. Патогенез диареи в основном связан с повреждением ворсинок тонкого кишечника, которое приводит к нарушению ионного транспорта и всасывания. У многих детей инфицирование протекает бессимптомно, однако в этом случае вирусы так же выделяются с фекалиями и могут служить источником нового заражения и поддержания циркуляции вируса в популяции. Для специфической профилактики ротавирусной инфекции разработаны вакцины, которые показали свою эффективность для предотвращения тяжелых ротавирусных гастроэнтеритов, а также смертности от диарей любой этиологии.*

**Ключевые слова:** дети, ротавирус, диарея, вакцинация.  
(Вестник РАМН. 2015; 1: 47–55)

47

### Введение

Диарейные заболевания занимают второе место в структуре смертности от инфекций детей младше 5 лет по всему миру. В 2011 г. инфекционная диарея стала причиной 9,9% из 6,9 млн смертей в этой возрастной группе, причем более 70% умерших были младше 2 лет [1]. К главным возбудителям инфекционной диареи, в т.ч. со смертельным исходом, относят ротавирус, калицивирус (норовирус), энтеропатогенные и энтеротоксигенные *Escherichia coli*, которые в совокупности ответственны более чем за 50% всех смертей от диареи и ее тяжелых форм у детей младше 5 лет в глобальном масштабе. Среди указанных возбудителей лидирует ротавирус, доля которого составляет 39,4% от общего числа эпизодов диареи, при которых изучали этиоло-

гию, а среди этиологически расшифрованных вирусных диарей ротавирус выявляется в 65% случаев, причем 17,8% смертельных диарей связаны с ротавирусом. Таким образом, ежегодно с ротавирусным гастроэнтеритом связано 197 тыс. смертей, т.е. каждый час от этой инфекции погибает 23 ребенка [2].

### Эпидемиология диарей и ротавирусной инфекции

Эпидемиология диарей имеет региональные особенности. Бремя тяжелых диарейных инфекций наиболее ощутимо в странах Африки и Юго-Восточной Азии, где регистрируется подавляющее большинство смертельных случаев [2]. В этом же регионе высока доля инвазивных бактериальных и паразитарных диарей. В Европе преоб-

Н.А. Mayanskiy<sup>1, 2</sup>, А.Н. Mayanskiy<sup>3</sup>, Т.В. Kulichenko<sup>1, 2</sup>

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

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

<sup>3</sup> State Medical Academy, Nizhniy Novgorod, Russian Federation

## Rotavirus Infection: Epidemiology, Pathology, Vaccination

*Diarrheal infections remain the major cause of morbidity and mortality among children under 5 years of age. The rotavirus holds the leading position among principal diarrheal pathogens that include also norovirus, enteropathogenic and enterotoxigenic Escherichia coli. Rotaviruses are transmitted by the fecal-oral route and are extremely contagious and stable in the environment. This facilitates viral transmission, particularly in daycare centers and hospitals. Rotavirus infection causes acute gastroenteritis with diarrhea and dehydration of various degrees resulting primarily from destruction of intestinal villus enterocytes with subsequent impairment of the ion transport and absorption. The incidence of rotavirus infection peaks during the winter and spring in countries with temperate climate. Many children have asymptomatic infection that supports rotavirus circulation in the population. Several vaccines have been developed for specific prophylaxis of rotavirus infections and demonstrated protection from severe acute rotavirus gastroenteritis and all-cause diarrheal mortality.*

**Key words:** children, rotavirus, diarrhea, vaccination.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 47–55)

Таблица 1. Этиологическая структура острых диарей в детской популяции

| Патоген                 | Доля патогена в структуре острой диареи установленной этиологии, % |                         |                     |
|-------------------------|--|-------------------------|---------------------|
|                         | В мире в целом <sup>а</sup> [2]                                    | Европа <sup>б</sup> [2] | РФ <sup>в</sup> [3] |
| <b>Вирусы</b>           | 59,4   | 84,1                    | 68,1 <sup>г</sup>   |
| В том числе:            |  |                         |                     |
| Ротавирус               | 32,8   | 55,4                    | 41,7                |
| Калицивирус (норовирус) | 13,6   | 31                      | 21,8                |
| Аденовирус              | 4,7  | 5,8                     | 3,2                 |
| Астровирус              | 2,9  | 1,9                     | 1,4                 |
| <b>Бактерии</b>         | 36,5   | 15,9                    | 15,2                |
| <b>Паразиты</b>         | 6,1  | 0                       | Не определяли       |

Примечание. Этиология диареи была установлена: <sup>а</sup> — в 66% случаев, <sup>б</sup> — в 47% случаев, <sup>в</sup> — в 58% случаев, <sup>г</sup> — в 15,2% случаев этиология диареи была определена как смешанная вирусно-бактериальная.

48

ладают вирусные диареи, из них более половины связаны с ротавирусом (табл. 1). По оценкам европейских экспертов, на 23,6 млн детей младше 5 лет, проживающих в странах Евросоюза, ежегодно приходится 3,6 млн эпизодов ротавирусного гастроэнтерита, т.е. частота составляет 1 случай клинически значимой инфекции на 7 детей ежегодно [4]. В результате инфекции погибает 231 ребенок, более 87 тыс. госпитализируются, и еще около 700 тыс. обращаются за медицинской помощью [5]. Большинство эпизодов ротавирусного гастроэнтерита протекают с умеренными проявлениями и благополучно разрешаются в домашних условиях, однако в Европе примерно 20% пациентов обращаются в лечебные учреждения, а 1 из 54 заболевших детей госпитализируют [5]. Ротавирусная инфекция определяет серьезное экономическое бремя, включая не только прямые расходы при оказании медицинской помощи, но и непрямые убытки за счет временной нетрудоспособности родителей в связи с необходимостью ухода за ребенком [4].

Доля ротавирусного гастроэнтерита из общего числа случаев острого гастроэнтерита у детей до 5 лет в европейских странах варьирует от 25,3% (в Греции) до 63,5% (в Норвегии). В других странах эта доля составляет 36–45% [4]. Следует отметить, что частота ротавирусной инфекции может сильно меняться в зависимости от того, какую популяцию пациентов включают в исследование. Так, среди госпитализированных пациентов доля ротавирусного гастроэнтерита составляет 53–69%; из числа обратившихся в отделение неотложной помощи с симптомами гастроэнтерита у 35–63% болезней имеет ротавирусную этиологию; доля ротавируса среди пациентов, обследовавшихся у специалистов первичного звена, ниже и варьирует от 7,7 до 41,3% [4].

Вероятно, что приведенные цифры недооценивают истинную заболеваемость ротавирусной инфекцией. Это связано с тем, что многие случаи ротавирусного гастроэнтерита не попадают в поле зрения медицинских учреждений, в которых могла бы быть выявлена их этиология. Для ведения конкретного пациента точный этиологический диагноз не требуется, поэтому данные могут отражать не общую заболеваемость, а некоторую долю пациентов (примерно 20–25%), которым потребовалась профессиональная медицинская помощь [4, 5].

В большинстве стран Европы пик заболеваемости ротавирусной инфекцией приходится на холодные месяцы года (зиму и весну, т.е. с декабря по апрель-май) [2]. Аналогичные данные приводят и для Российской Федерации (РФ) [6].

#### Внутрибольничная ротавирусная инфекция

Серьезной проблемой является внутрибольничный ротавирусный гастроэнтерит. Его определяют как острый

гастроэнтерит, вызванный ротавирусом и возникший через 48–72 ч после госпитализации по причинам, не связанным с диареей [5, 7]. По данным метаанализа, опубликованного в 2012 г. [7], в странах Европы и Северной Америки заболеваемость внутрибольничным ротавирусным гастроэнтеритом составляет 1,6–4,4 случая на 100 госпитализаций и обладает выраженной сезонностью, совпадающей с подъемом частоты внебольничной инфекции. Чаще всего болеют пациенты младше 2 лет, госпитализированные в пиковый сезон: в этой группе заболеваемость составляет 6,4–9,9 случаев на 100 госпитализаций [7]. Источником внутрибольничной инфекции могут служить как пациенты с ротавирусным гастроэнтеритом, поскольку госпитализация предполагает тяжелое течение инфекции, которое обычно сопровождается более длительной экскрецией вируса, так и бессимптомные взрослые выделители, включая больничного персонала [5, 7].

#### Этиология диарей в Российской Федерации

В литературе последних 10 лет нам встретилось всего 2 крупных исследования, посвященных изучению этиологии диарей у детей в РФ. Одна работа включала результаты обследования 1848 детей, госпитализированных с диареей в клиники Москвы в 2002–2004 гг. [6], другая была проведена в Санкт-Петербурге и включала 5535 пациентов за период 2009–2013 гг. [3]. Обе работы показали примерно одинаковую структуру этиологии диарейных инфекций, поэтому для удобства мы приводим цифры более позднего исследования [3]. Доминирующей группой возбудителей диарейных инфекций были вирусы, которые составили 68% от числа этиологически расшифрованных диарей (см. табл. 1). Ротавирус был выявлен у 41,7% пациентов, еще 21,8% случаев были связаны с калицивирусом (норовирусом). Аденовирусные (3,2%) и астровирусные (1,4%) диареи встречались гораздо реже. Бактериальные возбудители были причиной диареи примерно в 15% расшифрованных случаев, еще у 15,2% детей были обнаружены вирусно-бактериальные ассоциации (см. табл. 1). Большинство пациентов с ротавирусным гастроэнтеритом (55–60%) были младше 6 лет [3].

Таким образом, этиологическая структура диарейных инфекций у детей в РФ близка к таковой в Европейском регионе. В общемировых данных весомую долю занимают бактериальные возбудители диареи с преобладанием энтеропатогенных (15,3%) и энтеротоксигенных (6,9%) *E. coli*, которые регистрируются преимущественно в Африке и странах Юго-Восточной Азии. В Европе эти возбудители не встречаются, а бактериальные диареи обусловлены главным образом *Salmonella spp.* и *Campylobacter spp.* [2]. В РФ, помимо этих двух возбудителей, обнаруживают



также *Shigella spp.* и энтеропатогенные *E. coli* и *Yersinia enterocolitica*. Энтеротоксигенные *E. coli* при острых диареях выявляют редко (<1%) [6].

Отметим, что объективную картину этиологического спектра возбудителей острой инфекционной диареи можно получить только с применением современных лабораторных методов, включающих наряду с рутинными микробиологическими методами и молекулярные способы идентификации возбудителей. Бактериологическое выявление микроорганизмов семейства энтеробактерий, практикуемое во многих инфекционных стационарах РФ, в настоящее время нельзя считать адекватным, т.к. оно дает надежные результаты лишь у 1 из 10 пациентов [6]. Так, использование метода полимеразной цепной реакции позволило А.Т. Подколзину и соавт. добиться расшифровки диареи у 81% пациентов [6]. Обычно эта цифра ниже и составляет 50–70% [2, 3].

### Патология

#### История открытия ротавирусов

Открытие ротавирусов стало возможным благодаря усилиям исследователей из Королевского детского госпиталя в Мельбурне (Австралия) под руководством R. Townley и R. Bishop в 1973 г. [8]. Они занимались изучением целиакии и других состояний, связанных с мальабсорбцией, для чего разработали методику быстрой и безопасной биопсии тонкого кишечника. Указанная техника была использована для оценки гистологической картины двенадцатиперстной кишки при острых гастроэнтеритах у детей. Результаты показали выраженное воспаление в верхних отделах тонкого кишечника, которое сочеталось с атрофией ворсинок, напоминавшей целиакию, примерно у 1/3 пациентов. При исследовании содержимого кишки у большинства детей не удалось обнаружить ни одного известного энтеропатогенного микроба или вируса. Однако изучение ультратонких срезов слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки с помощью электронной микроскопии показало наличие многочисленных частиц в эпителиоцитах, расположенных на апикальной поверхности ворсинок. Этот вирус размером 70 нм в огромных количествах выделялся с фекалиями (более  $10^{10}$  частиц на 1 мл). Электронно-микроскопическая структура нового вируса, напоминавшая колесо со спицами, определила его название — ротавирус (от лат. *rota* — колесо) [8]. Довольно быстро стало очевидно, что ротавирусы составляют весомую долю в этиологии острой диареи у детей по всему миру, а в периоды сезонных подъемов заболеваемости обнаруживаются у 70–90% детей младше 5 лет с тяжелой дегидратирующей диареей. Отметим, что это открытие имело немедленные практические последствия. Уже в 1975 г. в Мельбурнском госпитале из схем лечения острого гастроэнтерита были исключены антибиотики в связи с установлением вирусной этиологии заболевания у большинства пациентов [8].

Более чем сорокалетняя история изучения ротавирусов и борьбы с ними отмечена важными достижениями. Инфекционная природа диареи определила необходимость соблюдения определенных гигиенических мер для профилактики распространения заболевания. Кроме того, было показано, что оральная регидратация является эффективным методом лечения легких и среднетяжелых форм заболевания, делая необязательными внутривенные инфузии. Обучение матерей выпаиванию ребенка при появлении у него диареи снизило стоимость лечения

и уменьшило детскую смертность в развивающихся странах [8]. Наконец, для профилактики инфекции были созданы и успешно применяются в настоящее время ротавирусные вакцины.

#### Строение, классификация ротавирусов и эпидемиология серотипов

Ротавирусы (род *Rotavirus*) относятся к семейству *Reoviridae*, которое включает вирусы с сегментированным геномом, представленным 9–12 фрагментами двунитчатой РНК [9]. Ротавирусные частицы довольно крупные (100 нм) и устроены сложно. Они образованы из 3 концентрических белковых слоев, в которые заключен вирусный геном, состоящий из 11 сегментов двунитчатой РНК (рис.). Каждый сегмент кодирует свой белок (11-й сегмент может кодировать 2 белка): всего 6 структурных белков, из которых строится вирусная частица (они получили название VP-белки, от англ. *viral proteins*), и 6 неструктурных белков (NSP-белки, от англ. *non-structural proteins*). NSP-белки синтезируются в инфицированной клетке и участвуют в репликации вируса, а также играют важную роль в патогенезе инфекции и иммунном ответе на нее. Внешнюю оболочку капсида составляет вирусный белок VP7, а белок VP4 образует «шипы», выступающие из наружной оболочки (см. рис.) [10, 11]. Каждая вирусная частица несет 60 таких шипов, служащих для связывания рецепторов на поверхности клеток хозяина. VP7 и VP4 индуцируют выработку вируснейтрализующих антител.

Ротавирусы подразделяют на группы (или виды) на основе антигенных характеристик, а также аминокислотной последовательности капсидного белка VP6 [9]. Всего описано 5 групп ротавирусов (А–Е) [12]. Ротавирусы, принадлежащие одной группе, способны обмениваться фрагментами генома при коинфекции, что обеспечивает их эволюцию и появление новых вирусов. Подавляющее большинство ротавирусных инфекций че-

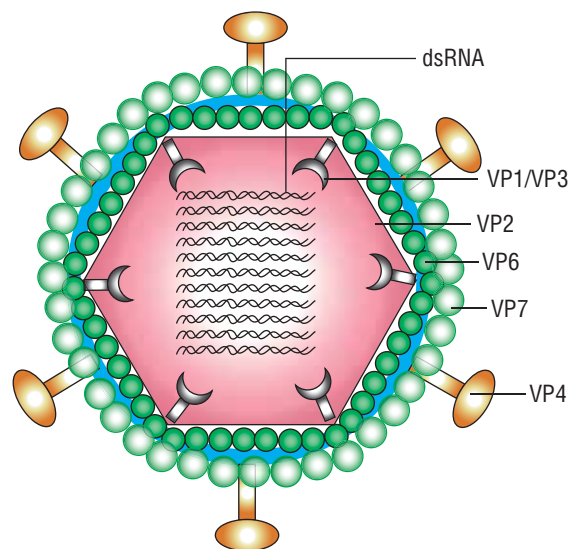


Рис. Вирион ротавируса (адаптировано из [22]).

*Примечание.* Вирион состоит из трех слоев: 1 — внутренний слой окружает вирусный геном, представленный 11 фрагментами двунитчатой РНК (dsRNA), и содержит адаптерный белок VP2, РНК-зависимую РН- полимеразу VP1/VP3; 2 — промежуточный слой образован главным структурным белком VP6; 3 — внешний слой состоит из белка VP7, который пронизывают «шипы» белка VP4.

ловека связаны с ротавирусами группы А, которые находятся в фокусе работы по вакцинопрофилактике. Ротавирусы человека могут вызывать гастроэнтерит у многих видов животных, включая сельскохозяйственных и домашних [13]. Напротив, ротавирусы животных даже при высокой инфицирующей дозе не вызывают клинически значимых инфекций у человека. Тем не менее эти вирусы могут индуцировать протективный иммунный ответ, защищающий от инфицирования человеческим ротавирусом [14]. Это наблюдение создало почву для разработки одного из вариантов ротавирусных вакцин.

В основе серологической бинарной классификации ротавирусов лежат антигенные особенности белков VP4 и VP7, которые реагируют со стандартными антисыворотками определенной специфичности. По VP7 ротавирусы разделяют на G-типы (VP7 является гликопротеином, англ. glycoprotein), а по VP4 — на P-типы (он является белком, чувствительным к действию протеаз, англ. protease-sensitive). Ввиду трудностей, связанных со стандартизацией серологического типирования, и с появлением в последние годы доступных методов генотипирования произошла замена серологической бинарной классификации ротавирусов на генетическую бинарную. К настоящему времени известно 27 G-генотипов (G1–G27) и 35 P-генотипов<sup>1</sup> (P[1]–P[35]) ротавируса [12]. У человека хотя бы однократно выделяли 10 вариантов G- и 11 вариантов см. сноски 1 P-генотипов [9].

Очевидно, что ротавирусы обладают выраженным серотиповым и генотипическим разнообразием. Поскольку геном ротавирусов сегментирован, гены VP4 и VP7 теоретически могут сегрегировать независимо и формировать огромное число сочетаний этих белков, т.е. различных серотипов. На практике у человека удалось выявить не более 50 комбинаций G/P, причем всего 4 из них имеют значимую распространенность и присутствуют у 90% изолятов ротавируса [9]. Циркуляция в естественных условиях лишь узкого спектра серотипов свидетельствует о том, что только определенные варианты VP4 и VP7 и их комбинации наделяют ротавирусы свойствами, необходимыми для успешной реализации стратегии выживания в желудочно-кишечном тракте.

Большинство ротавирусных инфекций у человека связано с генотипами G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] [15]. В некоторые эпидемические сезоны эти глобально распространенные штаммы отвечают за 100% ротавирусных диарей в развитых странах. Среди указанных 4 генотипов наибольший удельный вес имеют G1P[8]-ротавирусы. В России, по данным 2005–2007 гг., около 90% циркулирующих ротавирусов составляли штаммы G1P[8] и G4P[8] [6].

В развивающихся странах диарейные инфекции могут вызывать штаммы ротавирусов с редкими комбинациями G/P, причем частота встречаемости отдельных штаммов сильно варьирует в зависимости от региона. Так, по данным экспертов Всемирной организации здравоохранения, в 2010 г. среди редких штаммов в Юго-Восточной Азии преобладали ротавирусы с генотипами G12P[8] и G12P[6], в Африке южнее Сахары — генотипы G2P[6], G3P[6] и G1P[6], а в Западно-Тихоокеанском регионе — генотипы G1P[4] и G2P[8] [15, 16]. Мониторинг циркулирующих генотипов ротавирусов необходим для своевременного отслеживания экспансии новых вариантов, которые претендуют на роль глобальных штаммов.

К таким можно отнести генотип G9P[8], который вошел в группу доминирующих штаммов ротавирусов, где занимает 5–6% в общей структуре генотипов [17]. Появление ротавирусов с редкими вариантами и сочетаниями G/P способствует наличию условий для пересортировки генома ротавирусов человека и животных на указанных территориях, которая ведет к возникновению новых генотипов ротавируса.

Картина циркулирующих генотипов весьма динамична, и в ближайшем будущем возможно изменение структуры штаммов и появление новых «игроков» на этом поле. Например, в Африке к лидирующему генотипу G1P[8] с долей 18% приближается ранее редкий генотип G9P[8] с долей 12%. Еще один новый генотип — G12P[8] — к настоящему времени имеет долю 3% [18]. О вспышке G12P[8]-ротавирусной инфекции сообщалось и в США [19].

### *Патогенез и клиническая картина ротавирусной инфекции*

Ротавирусы обладают необычными свойствами, которые делают их успешными патогенами желудочно-кишечного тракта. Трехслойный капсид имеет высокую стабильность, которая облегчает фекально-оральный путь передачи и доставку вируса в тонкий кишечник, а также обеспечивает чрезвычайную контагиозность ротавируса. Исследования на взрослых добровольцах позволили определить минимальную инфицирующую дозу ротавируса, которая исчисляется единицами вирионов [20]. Ротавирус в течение долгого времени сохраняет жизнеспособность на различных поверхностях, постельных принадлежностях, одежде, игрушках и т.д., и обладает резистентностью ко многим известным антисептикам. Например, при вспышке ротавирусного гастроэнтерита в детском учреждении до 40% игрушек и 20% других поверхностей может быть заражено ротавирусом [21], поэтому контролировать его распространение, особенно в детских учебных и лечебных учреждениях, очень непросто.

Инкубационный период ротавирусной инфекции обычно не превышает 48 ч, но иногда продолжается до 7 сут. Ротавирус инфицирует неделящиеся дифференцированные энтероциты апикальных отделов ворсинок тонкой кишки [10, 11].

Водянистая диарея и рвота, ведущие к обезвоживанию, являются главными симптомами ротавирусного гастроэнтерита. Лихорадка имеет место более чем у 90% больных, причем у 1/3 госпитализированных детей раннего возраста она превышает 39 °С [11]. У большинства детей выражены симптомы интоксикации, вялость, слабость, сонливость, резкое снижение аппетита. Заболевание в большинстве случаев начинается остро, а у 80% детей диарее предшествует рвота. Продолжительность диареи обычно составляет от 3 до 9 сут. Клинические формы варьируют от бессимптомного течения или легкой диспепсии до тяжелой профузной диареи с жизнеугрожающей дегидратацией (до 10–20 эпизодов стула за день), что частично зависит от дозы инфекции и природы ротавирусного штамма [11]. Особенно тяжело заболевание протекает на фоне иммунодефицита и у детей, ослабленных голоданием. Ротавирусная инфекция нередко сопровождается умеренными симптомами респираторного заболевания, однако способность рота-

<sup>1</sup> Результаты серотипирования и генотипирования VP7 совпадают, поэтому G-типы обозначают G1, G2, G3 и т.д. При обозначении вариантов VP4 цифры заключают в квадратные скобки (P[8], P[4]), т.к. они обозначают генотип.

вирусов к размножению в слизистой оболочке дыхательных путей сомнительна [10, 11].

В отличие от бактериальных диарей при ротавирусном гастроэнтерите в инфицированном кишечнике практически отсутствует воспаление. Инфекция повреждает ворсинки, приводя к нарушению всасывания и ионного транспорта, вызывая тем самым осмотическую диарею. Ротавирусная диарея имеет секреторный компонент, который опосредует неструктурный белок NSP4, активирующий хлоридные каналы, что повышает секрецию ионов хлора и воды [22]. Его считают первым (и пока единственным известным) вирусным энтеротоксином [10, 22]. В патогенезе диареи также имеют значение активация локальной нервной системы и усиление перистальтики кишечника [22]. Кроме того, все инфицированные переносят короткий период вирусемии, а вирусные частицы можно обнаружить в некоторых тканях за пределами кишечника, однако клиническая значимость внекишечного распространения ротавирусов неясна [23].

### Иммунитет

Ротавирусная инфекция сопровождается местным (мукозальным) и общим иммунным ответом [24]. Первые представления о развитии иммунитета к ротавирусам сформировались в результате наблюдения за естественной динамикой инфицирования и реинфицирования детей [25]. Авторы наблюдали за 200 детьми в течение первых 2 лет жизни, фиксируя возникновение ротавирусной инфекции и связанного с ней иммунного ответа. Первичное инфицирование ротавирусом чаще всего приводило к острому гастроэнтериту, однако уменьшало степень тяжести последующих инфекций. Дети, перенесшие 2 эпизода ротавирусной инфекции, больше не болели тяжелыми и среднетяжелыми ее формами. При этом иммунитет вырабатывался вне зависимости от того, как протекала болезнь: с симптомами или без таковых [25]. Таким образом, бессимптомные ротавирусные инфекции поддерживают циркуляцию возбудителя у человека, обеспечивая популяционный иммунитет. Проспективное наблюдение за детьми, посещающими детские сады, показало, что бессимптомные ротавирусные инфекции встречались в 3–4 раза чаще, чем клинически выраженные [26].

Тонкие механизмы, обеспечивающие иммунитет после ротавирусной инфекции, понятны не до конца. Инфицирование стимулирует гуморальное звено иммунного ответа, в результате чего вырабатываются нейтрализующие антитела против VP7 и VP4, главным образом иммуноглобулины классов G и A (IgG и IgA). Наряду с гомотипическими антителами (т.е. нацеленными против вируса того типа, который вызвал инфекцию) при первичной ротавирусной инфекции обнаруживают и гетеротипические антитела, способные нейтрализовать другие варианты вирусов [27]. Эти перекрестно-реагирующие антитела являются одним из факторов, объясняющих снижение частоты и тяжести инфекции после повторных заражений, о чем говорилось выше. Таким образом, феномен повышения устойчивости к вирусу с увеличением числа контактов с ним объясняются особенностями формирования местного иммунитета.

Важнейшим защитным механизмом от ротавирусной инфекции является выработка мукозальных антител IgA в кишечнике. Большинство интестинальных IgA

нацелены против внутреннего белка ротавирусов VP6, т.е. не являются нейтрализующими [24]. Интересно, что многие ротавирусспецифические В лимфоциты, циркулирующие в крови, несут на своей поверхности особые рецепторы, которые обеспечивают их прицельную миграцию в лимфоидные ткани кишечника (специфический хоуминг-рецептор  $\alpha 4\beta 7$ ) [27]. Здесь они превращаются в антителопродуцирующие клетки, а также клетки памяти. Именно В лимфоциты обеспечивают защиту от повторных инфекций. Значимость этого механизма удалось подтвердить путем определения копроантител IgA и демонстрации прямой корреляции их высокого уровня с невосприимчивостью к ротавирусной инфекции [28]. В связи с этим на исследование интестинальных вирусспецифических IgA к белкам VP6 и NSP4 возлагают определенные надежды как на лабораторный маркер эффективности иммунитета против ротавирусов, поскольку параллель между резистентностью к вирусу и сывороточными нейтрализующими VP4- и VP7-антителами удается провести не всегда [24].

Следует подчеркнуть, что эффективная защита обеспечивается именно активным иммунным ответом на ротавирусную инфекцию. Об этом косвенно свидетельствуют наблюдения, как пассивный иммунитет за счет материнских антител, передающихся через плаценту и содержащихся в молоке, дает лишь слабую устойчивость к ротавирусу в первые месяцы жизни [10].

### Вакцинопрофилактика

Сравнительно небольшое число актуальных серотипов ротавируса и данные об особенностях формирования иммунитета к этому возбудителю помогли в создании ротавирусных вакцин.

В настоящее время разработаны и рекомендованы к использованию 3 оральные живые ротавирусные вакцины<sup>2</sup> (табл. 2): живая аттенуированная моновалентная вакцина из человеческого штамма G1P[8]; реассортантная пятивалентная вакцина, которая содержит фрагменты человеческого и бычьего ротавируса, и живая аттенуированная моновалентная вакцина из человеческого штамма G9P[11]. Две последние вакцины не зарегистрированы в России. [8, 10, 29–32].

Человеческая моновалентная ротавирусная вакцина (PB1) была получена из клинического изолята ротавируса, выделенного в США. Этот штамм был клонирован, ослаблен путем многократных пассажей в культуре и включен в состав вакцины Ротарикс (ГлаксоСмитКляйн, Бельгия). Ротавирус с серотипом G1P[8] был выбран с учетом его высокой распространенности в циркуляции, поскольку ожидалось, что вакцина будет индуцировать серотипспецифический иммунитет.

Основу пятивалентной ротавирусной вакцины (PB5) составляет штамм бычьего ротавируса, модифицированный путем реассортации (перетасовки генетического материала) с человеческими ротавирусами. Образование реассортантных вирусов возможно благодаря фрагментации вирусного генома и происходит при совместном культивировании бычьих и человеческих ротавирусов. В результате полученные вирусы начинают экспрессировать поверхностные белки человеческого ротавируса. PB5 содержит 5 реассортантных живых вирусов с наиболее

<sup>2</sup> Существует овечья ротавирусная вакцина LLR, которая разработана в Китае и используется исключительно в этой стране; в международной литературе данные об ее эффективности не опубликованы [29].

Таблица 2. Современные ротавирусные вакцины [32, 47]

| Характеристики        | Моновалентная РВ1  | Пятивалентная РВ5   | Моновалентная 116Е      |
|-----------------------|--|---|-------------------------|
| Тип вакцины           | Живая аттенуированная  | Живая аттенуированная   | Живая аттенуированная   |
| Штамм(ы) ротавируса   | G1P[8]   | G1,G2,G3,G4,P1A[8]  | G9P[11]                 |
| Дозы и сроки введения | 2 дозы с интервалом не менее 4 нед:<br>1-я доза — ≥ 6 нед;<br>2-я доза — до 24 нед | 3 дозы с интервалом не менее 4 нед:<br>1-я доза — в 6–12 нед,<br>последняя доза — до 32 нед | 3 дозы в 6, 10 и 14 нед |
| Способ введения       | Оральная   | Оральная  | Оральная                |
| Зарегистрирована      | Во всем мире с 2006 г.   | Во всем мире с 2006 г.*   | В Индии с 2014 г.       |

Примечание. \* — в РФ зарегистрирована и используется только пятивалентная ротавирусная вакцина.

распространенными типами VP7 (G1-G4) и VP4 (P[8]). В различных странах мира, в т.ч. и в РФ, эта вакцина присутствует под названием Ротатек (Мерк, США). Как и в случае с РВ1, идеология защитного эффекта РВ5 базировалась на выработке G- и P-типоспецифических нейтрализующих антител против соответствующих серотипов ротавируса.

Начальные клинические исследования этих вакцин, проведенные в Европе и Америке, показали высокую эффективность против доминирующих штаммов вируса, которые циркулировали во время проведения исследований [31]. Эффективность РВ1 против тяжелого ротавирусного гастроэнтерита составила 85% в Латинской Америке и 96% — эффективность в Европе. Эффективность РВ5 против тяжелого ротавирусного гастроэнтерита составила в США и Финляндии 98%. Результативность вакцинации была ниже в развивающихся странах, где заболеваемость ротавирусной инфекцией особенно высока. Так, РВ1 показала 59–64% эффективность против тяжелой ротавирусной диареи у детей первого года жизни в Южной Африке и Малави [33, 34]. Действенность РВ5 — 64% в Африке (Гана, Кения, Мали) и 51% в Азии (Вьетнам и Бангладеш) у детей этой же возрастной группы [35, 36].

В 2012 г. Кокрановское сотрудничество опубликовало обзор проведенных к тому времени рандомизированных контролируемых исследований ротавирусных вакцин, в которых эффективность РВ1 или РВ5 сравнивали с плацебо, отсутствием вмешательства или с другой вакциной [29]. Авторы включили в публикацию 41 исследование с общим числом участников около 200 тысяч человек. Анализ данных показал, что в странах с низкой летальностью эффективность РВ5 составила 87% против тяжелой ротавирусной диареи и 72-96% против всех случаев тяжелой диареи у детей до 1 года, а в странах с высокой смертностью РВ5 предотвращала 41-57% случаев тяжелой ротавирусной диареи и 15% всех случаев тяжелой диареи у детей до 2 лет [29].

Похожие результаты были получены и для РВ1. В странах с низкой смертностью от ротавирусной инфекции РВ1 предотвращает более 80% случаев тяжелой ротавирусной диареи, и только 35-40% всех случаев тяжелой диареи у детей в возрасте до 2 лет. В странах с высоким уровнем смертности РВ1 предотвращает 63% случаев тяжелой ротавирусной диареи и 34% всех случаев диареи у детей в возрасте до 1 года, а у детей в возрасте до 2 лет эти показатели составляли 42% и 18%, соответственно [29].

Широкое применение ротавирусных вакцин РВ1 и РВ5 позволило уточнить механизмы иммунитета против ротавируса. Исследования 3 фазы продемонстрировали эффективность данных вакцин против различных серотипов ротавируса, в том числе и не входящих в их состав. Вакцина РВ5, помимо вакцинных серотипов, оказалась эффективной и против серотипа G9P и G12[8], который в эту вакцину не входит [38], а вакцина РВ1 предотвращала тяжелый ротавирусный гастроэнтерит, связанный как с вакцинным серотипом G1, так и с другими актуальными серотипами ротавируса, включая G3 [37]. Данные по эф-

фективности РВ1 относительно серотипа G2 оказались не достаточно убедительными.

Для трехдозового режима введения РВ5 доказана эффективность в отношении предотвращения любых форм ротавирусного гастроэнтерита, как тяжелых, так и легких. Эффективность РВ5 по защите от легких, средних и тяжелых форм болезни составляет 74% [38].

Защитный эффект вакцинации реализуется не только за счет образования нейтрализующих серотип-специфических G- и P-антител, но и путем формирования иммунитета к общему антигену ротавируса (т.е. серотип-независимому). Одним из кандидатов на роль такого антигена является главный структурный белок ротавируса VP6 (см. рис. 1), который формирует промежуточный слой вирусной оболочки, обладает высокой иммуногенностью и при этом достаточно консервативен у вирусов различных G- и P-типов [31]. VP6 индуцирует продукцию сывороточных и интестинальных антиротавирусных IgA-антител, уровень которых хорошо коррелирует с защитой от ротавирусного гастроэнтерита, вызванного большинством известных серотипов [34]. Однако некоторые серотипы ротавируса в связи со структурными особенностями VP6, отличающимися их от вакцинных серотипов, могут «ускользнуть» от действия вакцин. Примером служит серотип G2P[4], который, обладая необычным субтипом VP6, продолжает циркулировать в Бразилии на фоне интенсивного использования РВ1 [39]. Таким образом, существующие ротавирусные вакцины показали достаточную эффективность для профилактики тяжелых случаев ротавирусных диарей, а также диарей другой этиологии, особенно в развивающихся странах с высоким уровнем заболеваемости и смертности от диареи связывают с рядом факторов. К ним относятся более высокий уровень антиротавирусных материнских антител у реципиентов вакцины; низкий уровень гигиены, который способствует постоянному массивному контакту с патогеном в окружающей среде; недостаток питания; неблагоприятный коморбидный фон. Кроме того, не исключено, что одновременное введение вакцины против полиомиелита может снижать эффективность ротавирусной вакцинации [40].

Тем не менее даже умеренная относительная эффективность ротавирусной вакцинации в развивающихся странах позволяет рассчитывать на существенный абсолютный эффект, выраженный числом предотвращенных случаев болезни и смерти от ротавирусной инфекции. Например, эффективность вакцинации в Малави (49%) оказалась ниже по сравнению с ЮАР (77%), однако в связи с более высокой фоновой заболеваемостью ротавирусом в Малави на 100 вакцинированных было предотвращено 7 случаев тяжелого ротавирусного гастроэнтерита против 4 в ЮАР [34]. Опираясь на эти данные, в 2009 г. эксперты Всемирной организации здравоохранения рекомендовали использование ротавирусных вакцин во всех странах, и особенно в регионах с высокой диарейной смертностью,

поскольку абсолютная польза от вакцинации в этих условиях существенно выше по сравнению с развитыми странами [41]. В 2014 г. опубликованы новые оптимистичные данные об эффективности ротавирусной вакцинации в Южной Африке: было показано снижение заболеваемости вакцинированных детей до двухлетнего возраста, в т.ч. у ВИЧ-инфицированных [33].

Особое внимание уделяют безопасности ротавирусных вакцин. Первый вариант реассортантной вакцины был отозван в 1999 г., через 1 год после начала использования. Это произошло в связи с увеличившейся частотой инвагинации кишечника, возникавшей через 3–7 сут после введения первой дозы вакцины, что соответствовало пику репликации вируса. Всего на 1 млн доз вакцины было зафиксировано 100 случаев непроходимости [42]. Осложнение возникало преимущественно у детей в возрасте 3–9 мес, прививавшихся в рамках программы «догоняющей» вакцинации, т.е. в том возрасте, когда наблюдается всплеск кишечной инвагинации, связанной с естественными причинами. У детей в возрасте до 90 сут вакцинация не повышала риск инвагинации [43].

Современные ротавирусные вакцины РВ1 и РВ5 обладают существенно лучшим профилем безопасности. В исследованиях, проведенных при лицензировании данных вакцин, они не увеличивали риск серьезных побочных явлений, в т.ч. кишечной инвагинации, по сравнению с плацебо [29]. Постлицензионные исследования показывают незначительное повышение риска инвагинации, связанной с вакцинацией, в пределах 1–5 случаев на 100 тыс. вакцинированных детей [31, 44, 45]. С учетом этих данных, эксперты Всемирной организации здравоохранения провели анализ польза/риск и пришли к заключению, что польза ротавирусной вакцинации во многом превышает небольшой риск кишечной инвагинации, и подтверждает свою рекомендацию повсеместного использования имеющихся ротавирусных вакцин [46, 47]. К такому же выводу пришли регулирующие органы США [31].

## Заключение

Ротавирусная инфекция по-прежнему остается главной причиной дегидратирующих диарей у детей. Благодаря успехам фундаментальных и клинических исследований, проведенных с момента открытия ротавируса в 1973 г., удалось раскрыть многие вопросы биологии ротавирусов, патогенеза ротавирусной инфекции и механизмов формирования иммунитета к ней. Многолетние целенаправленные усилия по разработке методов специфической профилактики ротавирусного гастроэнтерита увенчались разработкой и внедрением в практику нескольких вариантов ротавирусных вакцин, которые позволили перевести ротавирусную инфекцию в разряд вакциноуправляемых. Ротавирусная вакцинация включена в Национальные календари иммунизации во многих странах мира, где доказала свою эффективность, значительно уменьшив бремя тяжелых ротавирусных инфекций, а также снизив смертность от диарей в целом. С учетом значительной доли ротавируса в этиологии инфекционной диареи в нашей стране включение ротавирусной вакцинации в российский календарь прививок поможет существенно уменьшить частоту острых диарей и уровень распространения возбудителя среди всего детского населения.

## Конфликт интересов

**Н.А. Маянский** — получение исследовательских грантов, а также гонораров за выступление в качестве спикера от фармацевтических компаний Pfizer и GlaxoSmithKline.

**А.Н. Маянский** — отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

**Т.В. Куличенко** — получение исследовательских грантов от фармацевтических компаний Pfizer, Abbott, а также гонораров за выступление в качестве спикера от компаний Merck, Abbott, Pfizer, Novartis.

## ЛИТЕРАТУРА

- Walker C.L., Rudan I., Liu L., Nair H., Theodoratou E., Bhutta Z.A., O'Brien K.L., Campbell H., Black R.E. Global burden of childhood pneumonia and diarrhea. *Lancet*. 2013; 381: 1405–1416.
- Lanata C.F., Walker C.L., Olascoaga A.C., Torres C.X., Aryee M.J., Black R.E. Child Health Epidemiology Reference Group of the World Health Organization and UNICEF. Global causes of diarrheal disease mortality in children <5 years of age: a systematic review. *PLoS One*. 2013; 8 (9): 72788.
- Лукьянова А.М., Бехтерева М.К., Птичникова Н.Н. Клинико-эпидемиологическая характеристика вирусных диарей у детей. *Журнал инфектологии*. 2014; 6 (1): 60–66.
- Ogilvie I., Khoury H., Goetghebeur M.M., El Khoury A.C., Giacinto C. Burden of community-acquired and nosocomial rotavirus gastroenteritis in the pediatric population of Western Europe: a scoping review. *BMC Infect. Dis.* 2012; 12: 62.
- Soriano-Gabarró M., Mrukowicz J., Vesikari T., Verstraeten T. Burden of rotavirus disease in European Union countries. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2006; 25 (1): 7–11.
- Подколзин А.Т., Мухина А.А., Шипулин Г.А., Кузьмина В.Н., Браславская С.И., Малеев В.В. и др. Изучение этиологии острых кишечных инфекций у детей, госпитализированных в инфекционные отделения стационаров Москвы. *Инфекционные болезни*. 2004; 2 (4): 85–91.
- Bruijning-Verhagen P., Quach C., Bonten M. Nosocomial rotavirus infections: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2012; 129 (4): 1011–1019.
- Bishop R. Discovery of rotavirus: Implications for child health. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2009; 24 (3): 81–85.
- Patton J.T. Rotavirus diversity and evolution in the post-vaccine world. *Discov. Med.* 2012; 13: 85–97.
- Greenberg H.B., Estes M.K. Rotaviruses: from pathogenesis to Vaccination. *Gastroenterology*. 2009; 136: 1939–1951.
- Куличенко Т.В. Ротавирусная инфекция у детей. *Вопросы диагностики педиатрии*. 2009; 1 (2): 17–23.
- Ward R.L., Bernstein D.I., Young E.C., Sherwood J.R., Knowlton D.R., Schiff G.M. Human rotavirus studies in volunteers: determination of infectious dose and serological response to infection. *J. Infect. Dis.* 1986; 154: 871–880.
- Wilde J., Van R., Pickering L., Eiden J., Yolken R. Detection of rotaviruses in the day care environment by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *J. Infect. Dis.* 1992; 166: 507–511.
- Liu K., Yang X., Wu Y., Li J. Rotavirus strategies to evade host antiviral innate immunity. *Immunol. Lett.* 2009; 127: 13–18.
- Ramig R.F. Systemic rotavirus infection. *Expert. Rev. Ant. Infect. Ther.* 2007; 5: 591–612.
- Matthijnssens J., Ciarlet M., McDonald S.M., Attoui H., Bányai K., Brister J.R., Saif L.J., Santos N., Steyer A., Taniguchi K., Patton J.T., Desselberger U., Van Ranst M. Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). *Arch. Virol.* 2011; 156: 1397–1413.

17. Muller H., Johne R. Rotaviruses: diversity and zoonotic potential — a brief review. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 2007; 120: 108–112.
18. Vesikari T., Kapikian A.Z., Delem A., Zissis G. A comparative trial of rhesus monkey (RRV-1) and bovine (RIT 4237) oral rotavirus vaccines in young children. *J. Infect. Dis.* 1986; 153: 832–839.
19. WHO. Global rotavirus information and surveillance bulletin. 2010. Vol. 4.
20. O’Ryan M. The ever changing landscape of rotavirus serotypes. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2009; 28 (3; Suppl.): 60–62.
21. Matthijnssens J., Heylen E., Zeller M., Rahman M., Lemey P., Van Ranst M. Phylodynamic analyses of rotavirus genotypes G9 and G12 underscore their potential for swift global spread. *Mol. Biol. Evol.* 2010; 27: 2431–2436.
22. Seheri M., Nemarude L., Peenze I., Netshifhefhe L., Nyaga M.M., Ngobeni H.G., Maphalala G., Maake L.L., Steele A.D., Mwenda J.M., Mphahlele J.M. Update of rotavirus strains circulating in Africa from 2007 through 2011. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2014; 33 (Suppl. 1): 76–84.
23. Mijatovic-Rustempasic S., Teel E.N., Kerin T.K., Hull J.J., Roy S., Weinberg G.A., Payne D.C., Parashar U.D., Gentsch J.R., Bowen M.D. Genetic analysis of G12P[8] rotaviruses detected in the largest U.S. G12 genotype outbreak on record. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 21: 214–219.
24. Desselberger U., Huppertz H.I. Immune responses to rotavirus infection and vaccination and associated correlates of protection. *J. Infect. Dis.* 2011; 203: 188–195.
25. Velazquez F.R., Matson D.O., Calva J.J., Morrow A.L., Glass R.I., Pickering L.K., Ruiz-Palacios G.M. Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N. Engl. J. Med.* 1996; 335: 1022–1028.
26. White L.J., Buttery J., Cooper B., Nokes D.J., Medley G.F. Rotavirus within day care centres in Oxfordshire, UK: Characterization of partial immunity. *J. R. Soc. Interface.* 2008; 5: 1481–1490.
27. Chiba S., Yokoyama T., Nakata S., Morita Y., Urasawa T., Taniguchi K., Urasawa S., Nakao T. Protective effect of naturally acquired homotypic heterotypic rotavirus antibodies. *Lancet.* 1986; 2: 417–421.
27. Jaimes M.C., Rojas O.L., Kunkel E.J., Lazarus N.H., Soler D., Butcher E.C., Bass D., Angel J., Franco M.A., Greenberg H.B. Maturation trafficking markers on rotavirus specific B cells during acute infection and convalescence in children. *J. Virol.* 2004; 78: 10967–10976.
28. Coulson B.S., Grimwood K., Hudson I.L., Barnes G.L., Bishop R.F. Role of coproantibody in clinical protection of children during reinfection with rotavirus. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30: 1678–1684.
29. Soares-Weiser K., MacLehose H., Bergman H., Ben-Aharon I., Nagpal S., Goldberg E., Pitan F., Cunliffe N. Vaccines for preventing rotavirus diarrhoea: vaccines in use. *Cochr. Database Syst. Rev.* 2012; 14: 11.
30. Vesikari T. Rotavirus vaccination: a concise review. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18 (Suppl. 5): 57–63.
31. Tate J.E., Parashar U.D. Rotavirus vaccines in routine use. *Clin. Infect. Dis.* 2014; 59: 1291–1301.
32. Bhandari N., Rongsen-Chandola T., Bavdekar A., John J., Antony K., Taneja S., Goyal N., Kawade A., Kang G., Rathore S.S., Juvekar S., Muliylil J., Arya A., Shaikh H., Abraham V., Vrati S., Proschan M., Kohberger R. Thiry G., Glass R., Greenberg H.B., Curlin G., Mohan K., Harshavardhan G.V., Prasad S., Rao T.S., Boslego J., Bhan M.K. Efficacy of a monovalent human-bovine (116E) rotavirus vaccine in Indian infants: a randomised, double blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2014; 383: 2136–2143.
33. Groome M.J., Page N., Cortese M.M., Moyes J., Zar H.J., Kapongo C.N., Mulligan C., Diedericks R., Cohen C., Fleming J.A., Seheri M., Mphahlele J., Walaza S., Kahn K., Chhagan M., Steele A.D., Parashar U.D., Zell E.R., Madhi S.A. Effectiveness of monovalent human rotavirus vaccine against admission to hospital for acute rotavirus diarrhoea in South African children: a case control study. *Lancet Inf. Dis.* 2014; 14 (11): 1096–1104.
34. Madhi S.A., Cunliffe N.A., Steele D., Witte D., Kirsten M., Louw C., Ngwira B., Victor J.C., Gillard P.H., Cheuvart B.B., Han H.H., Neuzil K.M. Effect of human rotavirus vaccine on severe diarrhea in African infants. *N. Engl. J. Med.* 2010; 362: 289–298.
35. Armah G.E., Sow S.O., Breiman R.F., Dallas M.J., Tapia M.D., Feikin D.R., Binka F.N., Steele A.D., Laserson K.F., Anshah N.A., Levine M.M., Lewis K., Coia M.L., Attah-Poku M., Ojwando J., Rivers S.B., Victor J.C., Nyambane G., Hodgson A., Schödel F., Ciarlet M., Neuzil K.M. Efficacy of pentavalent rotavirus vaccine against severe rotavirus gastroenteritis in infants in developing countries in sub-Saharan Africa: a randomised, doubleblind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2010; 376: 606–614.
36. Zaman K., Dang D.A., Victor J.C., Shin S., Yunus M., Dallas M.J., Podder G., Vu D.T., Le T.P., Luby S.P., Le H.T., Coia M.L., Lewis K., Rivers S.B., Sack D.A., Schödel F., Steele A.D., Neuzil K.M., Ciarlet M. Efficacy of pentavalent rotavirus vaccine against severe rotavirus gastroenteritis in infants in developing countries in Asia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2010; 376: 615–623.
37. Vesikari T., Karvonen A., Prymula R., Schuster V., Tejedor J.C., Cohen R., Meurice F., Han H.H., Damaso S., Bouckennooghe A. Efficacy of human rotavirus vaccine against rotavirus gastroenteritis during the first 2 years of life in European infants: randomised, double blind controlled study. *Lancet.* 2007; 370: 1757–1763.
38. Vesikari T., Karvonen A., Ferrante S.A., Ciarlet M. Efficacy of the pentavalent rotavirus vaccine, RotaTeq(R), in Finnish infants up to 3 years of age: the Finnish Extension Study. *Eur. J. Pediatr.* 2010; 169: 1379–1386.
39. Carvalho-Costa F.A., Volotao E.M., de Assis RMS et al. Laboratory based rotavirus surveillance during the introduction of a vaccination program, Brazil, 2005–2009. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2011; 30: 35–41.
40. Glass R.I., Parashar U.D., Bresee J.S., Turcios R., Fischer T.K., Widdowson M.A., Jiang B., Gentsch J.R. Rotavirus vaccines: current prospects and future challenges. *Lancet.* 2006; 368: 323–332.
41. Meeting of the Strategic Advisory Group of Experts on immunization, October 2009 — conclusions and recommendations. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2009; 84: 517–532.
42. Murphy T.V., Gargiullo P.M., Massoudi M.S., Nelson D.B., Jumaan A.O., Okoro C.A., Zanardi L.R., Setia S., Fair E., LeBaron C.W., Wharton M., Livengood J.R. Intussusception among infants given an oral rotavirus vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344: 561–572.
43. Simonsen L., Viboud C., Elixhauser A., Taylor R.J., Kapikian A.Z. More on Rota Shield and intussusception: the role of age at the time of vaccination. *J. Infect. Dis.* 2005; 192 (Suppl. 1): 36–43.
44. Yih W.K., Lieu T.A., Kulldorff M., Martin D., McMahill-Walraven C.N., Platt R., Selvam N., Selvan M., Lee G.M., Nguyen M. Intussusception risk after rotavirus vaccination in U.S. infants. *N. Engl. J. Med.* 2014; 370: 503–512.
45. Weintraub E.S., Baggs J., Duffy J., Vellozzi C., Belongia E.A., Irving S., Klein N.P., Glanz J.M., Jacobsen S.J., Naleway A., Jackson L.A., DeStefano F. Risk of intussusception after monovalent rotavirus vaccination. *N. Engl. J. Med.* 2014; 370: 513–519.
46. Rotavirus vaccines: WHO position paper — January 2013. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2013; 88: 49–64.
47. Programmes WHO. URL: [www.who.int/vaccine\\_safety/committee/topics/rotavirus/rotavac/Jun\\_2014/en/](http://www.who.int/vaccine_safety/committee/topics/rotavirus/rotavac/Jun_2014/en/). (available: 11.10.2014).

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Маянский Николай Андреевич**, доктор медицинских наук, заведующий лабораторным отделом Научного центра здоровья детей, профессор кафедры аллергологии и клинической иммунологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-02-18,

e-mail: mayansky@nczd.ru

**Маянский Андрей Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии НижГМА

Адрес: 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1, тел.: +7 (831) 469-79-73,

e-mail: mayansky@gma.nnov.ru

**Куличенко Татьяна Владимировна**, доктор медицинских наук, заведующая отделением неотложной педиатрии Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-30-83,

e-mail: tkulichenko@yandex.ru

**ROTATEK® – первая и единственная пентавалентная, живая вакцина для перорального приема, которая защищает от 5-и наиболее распространенных в России серотипов ротавируса<sup>\*1,2</sup>**

- ROTATEK® – 3-х дозовая схема вакцинации обеспечивает защиту от тяжелых, средних и легких форм ротавирусного гастроэнтерита<sup>2</sup>
- ROTATEK® совместим с другими вакцинами в рекомендованной схеме: 2 - 3 - 4,5 месяца<sup>2</sup>
- Безопасность подтверждена в одном из крупнейших в истории вакцин исследований REST (68 038 пациентов)<sup>3</sup>

**РотаТек®**

(Вакцина для профилактики ротавирусной инфекции, пентавалентная, живая, оральная)



### Показания к применению:

Активная иммунизация детей в возрасте от 6 до 32 недель с целью профилактики гастроэнтерита, вызываемого ротавирусами серотипов G1, G2, G3, G4 и серотипов G, содержащих P1A[8] (например, G9). Курс вакцинации состоит из трех готовых к употреблению доз вакцины РотаТек®, которые должны вводиться орально.

Первая доза вакцины РотаТек® должна вводиться в возрасте от 6 до 12 недель, последующие дозы должны вводиться с интервалом от 4 до 10 недель.

### Избранная информация по безопасности вакцины РотаТек®

#### Противопоказания

Повышенная чувствительность к любому компоненту вакцины РотаТек®, а также на введение вакцины РотаТек® в анамнезе.

Инвагинация кишечника в анамнезе.

Врожденные пороки развития желудочно-кишечного тракта, предрасполагающие к инвагинации кишечника. Иммунодефицит, подозрение на иммунодефицит или ВИЧ-носительство. Острые воспалительные процессы, сопровождающиеся высокой температурой (в этих случаях вакцинацию проводят после выздоровления или в стадии ремиссии). Инфекционное заболевание легкой степени тяжести не должно служить причиной отказа от вакцинации. Острая форма диареи или рвоты (в этих случаях вакцинацию проводят на стадии ремиссии).

Непереносимость фруктозы, нарушение всасывания глюкозо-галактозного комплекса, недостаточность ферментов сахаразы и/или изомальтазы.

Вакцина РотаТек® не должна вводиться лицам с тяжелым комбинированным иммунодефицитом. Случаи гастроэнтерита, вызванные вакцинным вирусом отме-

чались у детей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом в пост-маркетинговых исследованиях.

#### С осторожностью

• При активных заболеваниях желудочно-кишечного тракта, включая хроническую диарею (отсутствие клинических данных). VACC-1054389-0011 (12.2012)

• При иммунокомпрометированном состоянии (например, в результате злокачественных новообразований или иммунодепрессивной терапии).

• При трансфузии крови или продуктов крови, включая иммуноглобулины, менее чем за 42 дня до назначенной вакцинации.

• Как и при любой другой иммунизации, вакцина РотаТек® может вызвать полную защиту не у всех вакцинированных.

#### Побочное действие

Вакцина обычно хорошо переносится.

Наиболее частыми нежелательными явлениями после введения вакцины РотаТек® (частота >1/10) являлись: инфекции верхних дыхательных путей, диарея, рвота, лихорадка, средний отит, возбудимость и кашель.

Следующие нежелательные явления были спонтанно сообщены после регистрации вакцины РотаТек® (сообщения поступали от населения неизвестного количественного состава, поэтому невозможно определить частоту или установить причинно-следственную связь с вакцинацией): поражения кожи или подкожных тканей, сыпь, кровоподтек, нарушения желудочно-кишечного тракта, гастроэнтерит с выделением вакцинного вируса у детей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом, иммунные системные нарушения – анафилактические реакции.

\* На 01.10.2012 – единственная зарегистрированная вакцина для профилактики Ротавирусной инфекции в России

1. Podkolzin A.T., Petukhov D. N., Veselova O.A. EPMG Report: Rotavirus gr A surveillance and genotype distribution in Russian Federation in season 2011-2012

2. Инструкция по применению Ротатек®

3. Vesikari T et al. Safety and Efficacy of a Pentavalent Human-Bovine (WC3) Reassortant Rotavirus Vaccine. N Engl J Med 2006;354:23-33.

Перед назначением любого препарата, упомянутого в данном материале, пожалуйста, ознакомьтесь с полной инструкцией по применению, предоставляемой компанией-производителем. Компания MSD не рекомендует применять препараты компании способами, отличными от описанных в инструкции по применению



ООО «МСД Фармасьютикалс» Россия, 115093,  
г. Москва, Павловская, д. 7, стр. 1,  
Тел.: +7 (495) 916 71 00, Факс: +7 (495) 916 70 94, www.merck.com

VACC-1084314-0000 (05.2013)

Д.А. Морозов<sup>1,2</sup>, Е.С. Пименова<sup>1,2</sup>, В.К. Таточенко<sup>1</sup>, М.Д. Бакрадзе<sup>1</sup>, Д.Д. Гадлия<sup>1</sup>, О.Л. Морозова<sup>2</sup>,  
А.Г. Талалаев<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

## Хирургическое лечение редкого сочетания мальротации кишечника со вторичной лимфангиэктазией

Представлено редкое клиническое наблюдение кишечной лимфангиэктазии по причине мальротации двенадцатиперстной кишки у ребенка 3 мес жизни. По результатам анализа данных литературы, в мире описано 3 подобных клинических случая. Ребенок был госпитализирован в Научный центр здоровья детей г. Москвы с клиническими признаками протеинтеряющей энтеропатии. Отмечались жалобы на рвоту, частый жидкий стул, потерю массы тела. Инфекционная природа заболевания была исключена. Имели место выраженная гипопропротеинемия, лимфопения. Было высказано предположение о наличии у ребенка болезни Вальдмана (первичной кишечной лимфангиэктазии). Прогноз для жизни в случае подобного заболевания неблагоприятен. Обследование было продолжено на фоне симптоматической терапии. В результате комплексного обследования, включающего помимо мониторинга лабораторных анализов крови рентгенологическое исследование с контрастом, компьютерную томографию, гастроудоденоскопию с биопсией слизистой оболочки тонкой кишки, был поставлен диагноз: «Мальротация двенадцатиперстной кишки с интермиттирующим заворотом средней кишки с развитием вторичной кишечной лимфангиэктазией». Диагностика патологии стала возможной в результате использования комплекса мероприятий с применением современных методов исследований и междисциплинарного подхода. Операция по устранению патологической фиксации кишки определила выздоровление пациента. В настоящее время ребенок растет и развивается соответственно возрасту, лечения не требуется. Прогноз данного заболевания расценен как благоприятный.

**Ключевые слова:** дети, лимфангиэктазия кишечника, мальротация.

(Вестник РАМН. 2015; 1: 56–62)

56

### Введение

**Внутриутробная ротация** кишечника у человека инициируется ультраструктурными изменениями в дорсальной брыжейке [1]. Асимметрия дорсальной брыжейки и быстрый рост средней кишки приводят к выходу петель кишки из тела эмбриона на 5–6-й нед гестации (1-й этап ротации кишечника) [2]. Когда процесс ротации завершен, связка Трейца закрепляет брыжейку к задней

стенке брюшной полости, что предотвращает перекрут брыжейки. Любые нарушения вращения могут привести к патологической фиксации. Кроме того, врожденные фиброзные спайки (тяжи Ледда), образующиеся при нарушении ротации кишки, могут стать причиной обструкции кишки и непроходимости [3, 4].

Факторы риска нарушения ротации кишечника: юный возраст матери, токсическое воздействие на плод, малый вес при рождении [5]. Частота мальротации составляет

D.A. Morozov<sup>1,2</sup>, E.S. Pimenova<sup>1,2</sup>, V.K. Tatchenko<sup>1</sup>, M.D. Bakradze<sup>1</sup>, D.D. Gadliya<sup>1</sup>, O.L. Morozova<sup>2</sup>,  
A.G. Talalaev<sup>1</sup>

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

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

## Surgical Treatment of Rare Combination of Intestinal Malrotation with Secondary Lymphangiectasia

The rare combination of intestinal lymphangiectasia with malrotation of the duodenum in a child of three months of life is described. Basing on the literature review only 3 similar cases were described in the world practice. The boy with protein-losing enteropathy was examined at Moscow Scientific Centre of Children's Health. The child had vomiting, diarrhea, loss in body weight, hypoproteinemia, lymphopenia. The infectious nature of the disease was excluded. It had been suggested the Waldman disease (primary intestinal lymphangiectasia). The prognosis for such disease is unfavorable. An examination of the child was continued against the backdrop of ongoing symptomatic therapy. Complete physical examination included monitoring laboratory blood tests, X-ray examination with contrast, CT-scan, gastroduodenoscopy with biopsy of the mucosa of the small intestine. Malrotation duodenum with the recurrent mid-gut volvulus with the development of secondary intestinal lymphangiectasia was diagnosed. Modern methods of examination and multidisciplinary approach made it possible to diagnose the case. Operation to eliminate fixation duodenum resulted in the recovery of the patient. At the present time the child grows and develops according to age and does not require treatment. The prognosis for this disease is regarded as favorable.

**Key words:** children, intestinal lymphangiectasia, malrotation.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 56–62)



1:500 [6], в то же время клинические ее проявления встречаются намного реже — с частотой 1:6000 [7]; 80% случаев манифестируют в 1-й мес жизни [4]. Зачастую мальротация сопровождается другими врожденные аномалии — диафрагмальные грыжи, пороки развития передней брюшной стенки [5].

Эмбриологию мальротации кишечника в 1898 г. описал Mall [8]. В 1932 г. вышла знаковая статья с описанием хирургического лечения мальротации Уильяма Эдварда Ледда (W.E. Ladd) — создателя и заведующего первой кафедрой детской хирургии Медицинской школы Гарвардского университета. Классический синдром Ледда (триада) — это гиперфиксация двенадцатиперстной кишки (ДПК), заворот средней кишки вокруг верхней брыжеечной артерии, высокое расположение слепой кишки [9]. При этом существует множество вариаций нарушения ротации и фиксации кишки, и не все они ведут к кишечной непроходимости.

Среди отечественных работ по мальротации кишечника необходимо отметить труды Ленинградской детской хирургической школы. Почти полвека назад Г.А. Баиров и соавт. в книге «Хирургия пороков развития у детей» описывали тактику ведения пациентов с синдромом Ледда, обращая внимание на необходимость проведения ирригографии детям с подозрением на мальротацию. В случае высокого расположения слепой кишки «...можно думать о синдроме Ледда или сдавлении двенадцатиперстной кишки аномально фиксированной слепой...» [10].

Общепринятая классификация мальротации отсутствует. В Атласе операций у новорожденных детей Г.А. Баирова, Ю.Л. Дорошевского, Т.К. Немиловой, изданном в 1984 г., подробно описана хирургическая тактика не только при нарушениях ротации и фиксации средней кишки, но и отдельно проиллюстрированы варианты наружной обструкции ДПК врожденными спайками [11].

В руководстве для врачей «Хирургия новорожденных» указано, что одной из частых причин врожденной кишечной непроходимости является нарушение вращения кишечника: помимо заворота нефиксированной кишки возможно сдавление ДПК высоко расположенной слепой кишкой [12].

Согласно И. Литтманну, существуют следующие варианты мальротации кишечника: полное отсутствие ротации, нонротация, мальротация I, мальротация II [13]. Дальнейшие работы показали богатое разнообразие нарушений ротации и фиксации кишечника. К.У. Ашкрафтом и Т.М. Холдером в 1996 г. обозначены следующие варианты мальротации кишечника: мальротация с заворотом, дуоденальная непроходимость, мезоколикотриетальные грыжи [14].

В Атласе детской оперативной хирургии описаны наиболее частые признаки мальротации — расположение дуоденоеюнального изгиба справа от средней линии, узкое основание брыжейки тонкой кишки (провоцирующее заворот средней кишки), наличие перитонеальных тяжей (Ледда), идущих от толстой и слепой кишки к ДПК, печени и желчному пузырю с возможной обструкцией ДПК [15].

В литературных источниках приводится анатомическая классификация мальротации кишечника, которая подразумевает 4 группы [16]:

- аномалии лево- и правосторонней асимметрии (гетеротаксия);
- аномалии дорсальной брыжейки;
- аномалии собственно кишечника;
- аномалии других структур брюшной полости.

Неоспоримым является тот факт, что при нормальной ротации кишечника может отмечаться нарушение его фиксации и, в частности, фиксации ДПК. Первое описание дуоденальной обструкции относится к 1752 г. Воегнегус описал пациента в возрасте 50 лет, который поступил в клинику с жалобами на рвоту и истощение. В левой половине живота пальпировалось огромное объемное образование. Пациент погиб. При аутопсии петли кишечника составляли единый конгломерат, сальник и брыжейка не детализировались. Объемное образование оказалось дилатированным желудком, был обнаружен фиброзно-измененный участок ДПК. Что явилось удивительной находкой для того времени — врожденный стеноз *duodeni* либо нераспознанные спайки, фиксирующие кишку, — неизвестно.

В 1820 г. Yeats перечислил токсические симптомы, сопутствующие обструкции ДПК поперечной ободочной кишкой. Он указал взаимосвязь правого изгиба толстой кишки и нисходящей ветви ДПК. Соннер в 1906 г. опубликовал патологоанатомическую работу, в которой продемонстрировал, что тракция брыжейки в сторону таза может привести к дуоденальной обструкции. Он утверждал, что наличие тонкой кишки в тазу является *sine qua non* для развития окклюзии ДПК. В 1903 г. Fawcett и Blatchford провели 337 аутопсий, доказав, что в 48% случаев нижняя граница ДПК располагалась у III поясничного позвонка, при том что расположение кишки варьировало от II до V поясничного позвонка. E.L. Kellogg и W.A. Kellogg в своей работе говорят о том, что Armstrong, Freeman и Aitken описывали ДПК с брыжейкой, идущей вниз до таза и к восходящей и поперечной ободочной кишке [17].

В 1979 г. Childress опубликовал статью *Duodenum Inversum*, описав врожденную патологию, при которой третья часть ДПК находится правее второй части или над луковицей (рис. 1) [18]. Был описан мобильный и неподвижный тип заболевания. Подобное многообразие конфигураций ДПК, несомненно, обусловлено ее внутриутробным развитием: когда слепая кишка в процессе ротации оказывается в правой подвздошной области, ДПК находится левее — между позвоночным столбом и корнем брыжейки. Подобное, склонное к компрессии, состояние может усугублять лордоз позвоночника, слабость мышц передней брюшной стенки, нефиксирован-

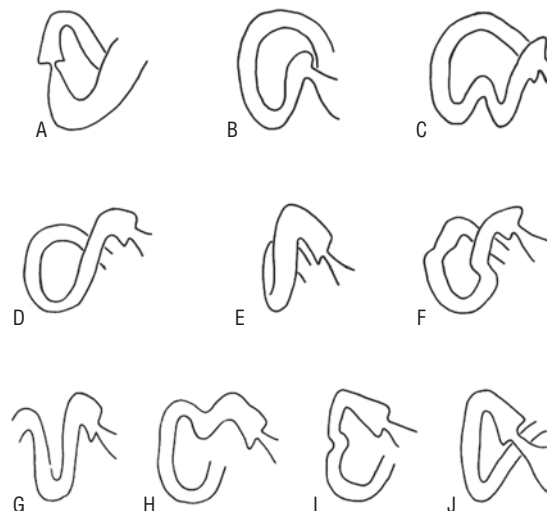
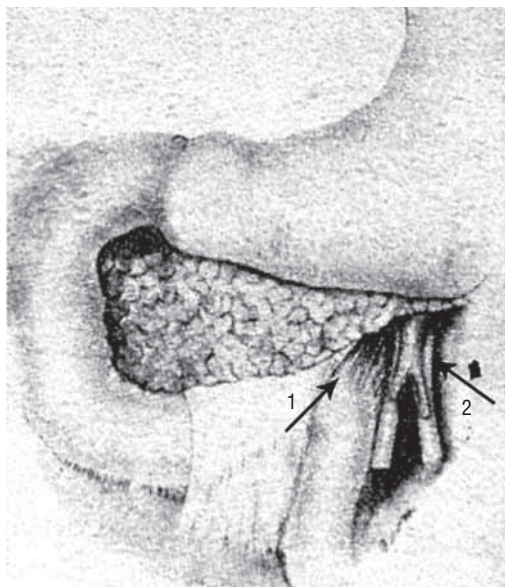


Рис. 1. Варианты расположения двенадцатиперстной кишки [18].  
Примечание. А–F — варианты инверсии двенадцатиперстной кишки. G — «зеркальная» двенадцатиперстная кишка. H–J — петлевидные формы двенадцатиперстной кишки.



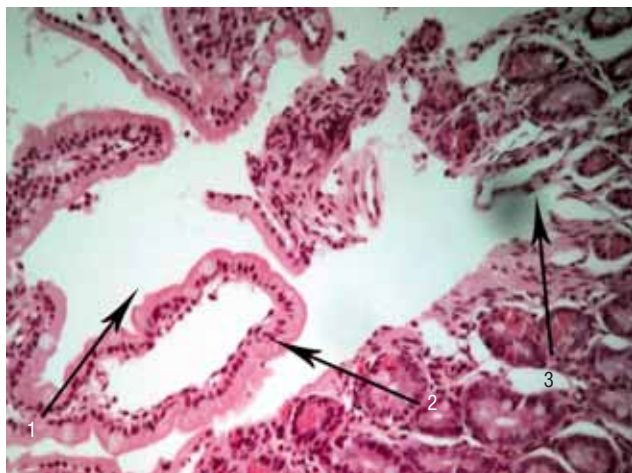
**Рис. 2.** 4-й тип гиперфиксации двенадцатиперстной кишки [19].  
Примечание. Дуоденоjejunalный изгиб (1) справа от мезентериальных сосудов (2).

58

ную слепую кишку (лат. *caecum*), длинную брыжейку. Обструкция может располагаться в одной или двух частях, либо во всей кишке.

Классификация наружной обструкции ДПК, на наш взгляд, наиболее полно представлена в работе Wayne и Burrington (США). Ими описано 4 типа перитонеальных тяжей, сдавливающих ДПК (рис. 2) [19].

**Кишечная лимфангиэктазия (КЛ)** — редкое заболевание, впервые описано Waldmann и соавт. в 1961 г. [20]. Основные симптомы — отеки и гипопроотеинемия, снижение концентрации альбумина и  $\gamma$ -глобулинов сыворотки крови. При биопсии стенки тонкой кишки выявляется дилатация лимфатических сосудов слизистого и подслизистого слоя различной степени выраженности. Лимфостаз и повреждение дистальных участков лимфатических сосудов приводит к «протечке» лимфы, богатой альбумином и другими протеинами, в желудочно-кишечный



**Рис. 3.** Морфологическая картина изменений слизистой оболочки тонкой кишки. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10, ув. ок. 10.  
Примечание. 1 — глубокие крипты, 2 — высокие ворсины, 3 — участок лимфангиэктазии.

тракт [21]. Наряду с прогрессирующей потерей белка нарушается всасывание хиломикронов и жирорастворимых витаминов. Эти структурные изменения лимфатической системы могут быть врожденными (первичная КЛ) и приобретенными (вторичная КЛ).

Первичную КЛ чаще диагностируют в первые 3 года жизни. Клинические симптомы — отеки век, рецидивирующая диарея, рвота. Лабораторно диагностируют лимфопению, гипоальбуминемию, гипогаммаглобулинемию. Ребенку пожизненно назначают диетотерапию. Прогноз неблагоприятный.

Вторичная КЛ — расширение лимфатических сосудов на фоне обструкции или повышения давления в лимфатических сосудах (вторичного по отношению к повышению венозного давления). Эта ситуация чрезвычайно редко встречается в клинической практике, поэтому мы сочли необходимым представить собственное наблюдение кишечной лимфангиэктазии по причине редкого варианта мальротации кишечника.

### Клиническое наблюдение

Мальчик С., возраст 3 мес, поступил в НИИ педиатрии Научного центра здоровья детей (Москва) с жалобами на жидкий учащенный (до 7 раз/сут) стул без патологической примеси, рвоту, плохую прибавку массы тела. Впервые симптомы появились за 2 нед до госпитализации. Ребенок наблюдался амбулаторно с диагнозом «Острая вирусная инфекция с кишечным синдромом», получал лечение (без эффекта). За все время болезни температура тела не повышалась.

Ребенок от первой нормально протекавшей беременности, первых родов в срок. Масса тела при рождении 3480 г, длина 53 см. Оценка по шкале Апгар 8–9 баллов. Раннее развитие без особенностей. С рождения находится на грудном вскармливании. Семейный анамнез не отягощен.

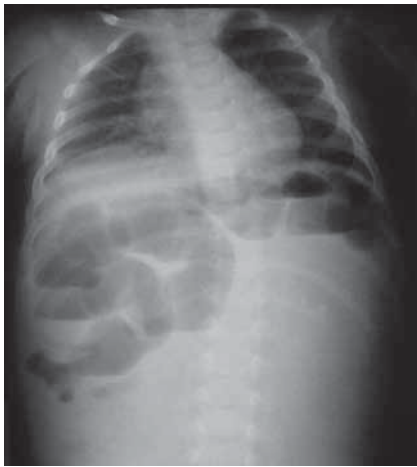
При осмотре вес ребенка составлял 6800 г, рост — 67 см. Физическое развитие среднее, гармоничное. Катаральных симптомов не было. Сердечно-легочная деятельность удовлетворительная. Живот вздутый, мягкий, доступный для глубокой пальпации. Стул 8 раз/сут, жидкий, без патологической примеси. Рвота 4 раза за истекшие сутки.

В клиническом анализе крови: умеренный лейкоцитоз до  $18 \times 10^9/\text{л}$  с выраженной лимфопенией (13,8%), умеренный тромбоцитоз ( $661 \times 10^9/\text{л}$ ). Концентрация гемоглобина 114 г/л, эритроциты  $4,28 \times 10^9/\text{л}$ , гематокрит 39%.

При биохимическом исследовании крови обнаружена выраженная гипопроотеинемия (24 г/л), гипоальбуминемия (11 г/л), гипогаммаглобулинемия (IgG 2 г/л). В клиническом анализе мочи протеинурии не было. В копрограмме — стеаторея. Микробиологическое исследование кала на патогенную кишечную флору показало отрицательный результат.

При проведении ультразвукового исследования (УЗИ) обнаружена мелкоочаговая диффузная неоднородность паренхимы печени. УЗИ сердечно-сосудистой системы, почек, мочевого пузыря, рентгенологическое исследование органов грудной клетки — без патологии.

При фиброгастродуоденоскопии в кишке дифференцированы подслизистые выбухающие образования овальной формы с просвечивающим водянистым содержимым. Биопсия слизистой оболочки тонкой кишки показала изменения в подслизистом слое в виде диффузно-очаговой лимфоцитарной инфильтрации (рис. 3).



**Рис. 4.** Обзорное вертикальное рентгенологическое исследование органов брюшной полости и грудной клетки.

*Примечание.* «Немая» зона и заполненные газом начальные отделы тонкой кишки свидетельствуют о завороте средней кишки.

Учитывая раннее начало заболевания, а также на основании кишечного синдрома с гипопротеинемией, характерных изменений слизистой оболочки тонкой кишки ребенку был поставлен диагноз: «Кишечная лимфангиэктазия». Высказано предположение о первичности поражения кишечной стенки, т.е. о болезни Вальдмана.

После деконтаминации кишечника цефтриаксоном была назначена диетотерапия с исключением длинноцепочечных жирных кислот, постепенно вводилась лечебная смесь с оптимальным содержанием среднецепочечных жирных кислот. Учитывая отказ ребенка от приема лечебной смеси со среднецепочечными триглицеридами, в рацион ввели полуэлементную смесь на основе глубокого гидролиза сывороточного белка с последующей заменой на лечебную смесь с низким содержанием длинноцепочечного жира. Медикаментозное лечение было основано на терапии октреотидом (из расчета 6 мкг/кг массы тела в сут) в течение 11 сут. В связи с выраженной гипоальбуминемией в клинике проводились заместительная терапия 20% раствором альбумина по 80–100 мл ежедневно (2,3–3 г белка на 1 кг массы тела), коррекция электролитных нарушений. После завершения курса октреотида в течение 2 нед продолжали ежедневное введение альбумина, поскольку его уровень в сыворотке крови на фоне жидкого стула снижался до 13–17 г/л.

Через 2 нед консервативной терапии вновь отмечена двукратная рвота желудочным содержимым, пациент стал беспокойным. Мальчик был консультирован в НИИ детской хирургии Научного центра здоровья детей. При осмотре отеков не выявлено, имела место незначительная пастозность век. Живот не вздут, не запавший, при пальпации мягкий по всем отделам, безболезненный. Симптомов раздражения брюшины нет. Стул отходил по 2–3 раза/сут, жидкий, в умеренном объеме, коричневого цвета. В массе тела прибавлял по 30–50 г ежедневно.

Ребенку было выполнено обзорное вертикальное рентгенологическое исследование органов брюшной полости, по результатам которого установлено, что имело место газонаполнение лишь желудка и начальных отделов тонкой кишки. Нижележащие отделы представляли собой так называемую немую зону (рис. 4). Наличие симптомов кишечной непроходимости и подобной рентгенологической картины является показанием для проведения неотложного хирургического вмешательства,



**Рис. 5.** Компьютерная томография брюшной полости. Фронтальная проекция.

*Примечание.* Расположение нижней горизонтальной ветви двенадцатиперстной кишки (1) справа от мезентериальных сосудов (2).

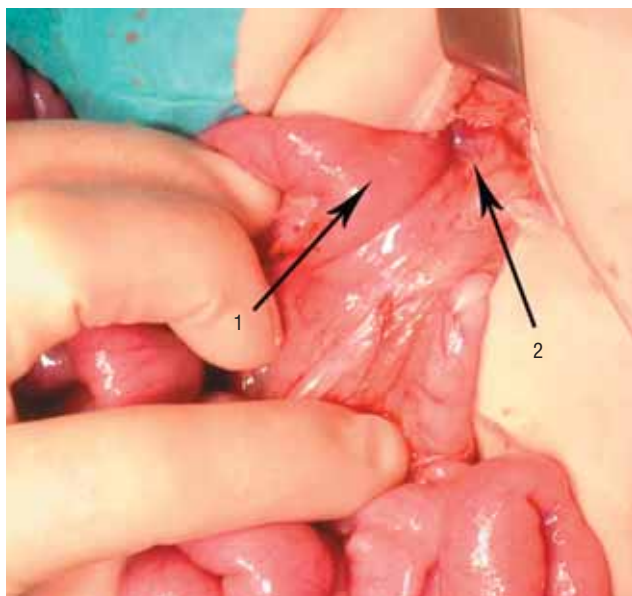
однако клинически у ребенка не было признаков непроходимости кишечника. Через 2 ч после эпизода беспокойства и рвоты у ребенка отошел стул, витальные функции были стабильными, ребенок не беспокоился, рвота не повторялась, признаков острого живота не отмечено. Было высказано предположение о наличии у ребенка одного из вариантов мальротации кишечника, назначено соответствующее обследование.

Для уточнения локализации слепой кишки была выполнена ирригография. Слепая кишка оказалась в правой половине живота с тенденцией к мезогастрию. Затем было выполнено рентгеноконтрастное исследование верхних отделов желудочно-кишечного тракта. При заполнении ДПК контрастом установили, что имело место не только несвоевременное (замедленное) опорожнение ДПК, но и необычное ее расположение (отсутствовала *flexura duodenojejunalis* — подвешивающая связка; кишка, не достигая средней линии, «обрывалась» вниз). С запозданием в 20 мин контраст заполнял петли тонкой кишки.

Компьютерная томография также показала наличие мегaduоденума и расположение ДПК справа от верхней брыжеечной артерии и вены. При этом симптома «вихря» зафиксировано не было (рис. 5).

Учитывая все вышеизложенное, пациенту был поставлен диагноз гиперфиксации ДПК с интермиттирующим заворотом средней кишки, что определило необходимость оперативного вмешательства.

Проведена правосторонняя верхняя поперечная лапаротомия. Интраоперационно установлено, что имела место фиксация нижней горизонтальной части ДПК и начала тощей кишки плоскостными тонкостенными спайками. Дуоденоюнальный изгиб представлял собой «двустволку». За счет излишней фиксации восходящая часть *duodeni* уходила вверх, а тощая кишка резко «обрывалась» вниз, ввиду чего верхняя брыжеечная артерия и вена оказались слева от ДПК, тогда как должны пересекать ее горизонтальную часть (рис. 6, 7). Полная мобилизация ДПК в данном случае не представлялась возможной, поскольку место патологического изгиба получало кровоснабжение непосредственно от брыжеечных сосудов. Максимально возможная мобилизация кишки была выполнена. При ревизии кишечника другой патологии диагностировано не было. Заворот средней кишки не зарегистрирован. Брюшная полость была наглухо ушита.

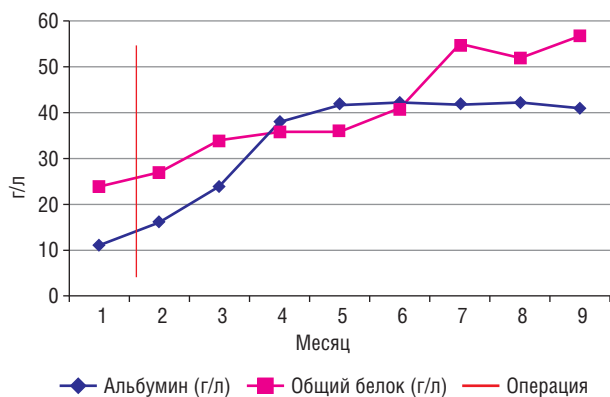


**Рис. 6.** Интраоперационная картина (фотография из архива оперирующего хирурга Д.А. Морозова). Расположение двенадцатиперстной кишки (1) справа от верхней брыжеечной артерии и вены (2).



**Рис. 7.** Схема интраоперационной картины порока.

*Примечание.* Расположение дуоденоюнального изгиба правее мезентериальных сосудов (1), гиперфиксация двенадцатиперстной кишки и начальных отделов тонкой кишки спайками (2).



**Рис. 8.** Динамика содержания альбумина и общего белка в сыворотке крови до и после операции.

Диагноз после операции: «Мальротация кишечника. Гиперфиксация двенадцатиперстной кишки, IV тип по Wayne. Интермиттирующий заворот средней кишки. Вторичная кишечная лимфангиэктазия».

Кормление было начато на следующий день после операции с 5 мл ранее вводимой смеси с постепенным увеличением объема под контролем желудочного содержимого. Пищу ребенок усваивал. Стул отошел на 2-е сут после операции. Послеоперационный период протекал гладко.

Через 3 сут объем кормления был доведен до должного. Ребенок оставался на диете с исключением длинноцепочечных жирных кислот, альбумин вводили за 1-й мес дважды, концентрация сывороточного альбумина сохранялась на низком уровне (16 г/л), но ребенок прибавлял в весе, рос и развивался нормально, имел стул 1–2 раза/сут. На протяжении 2–3-го мес альбумин вводили лишь дважды, с конца 3-го мес его концентрация в сыворотке крови начала увеличиваться и достигла 24 г/л. Через 4 мес после операции уровень альбумина составил 37, через 5 мес — 42 г/л и оставался стабильным через

8 мес после операции (рис. 8). Сохранялась тенденция к снижению концентрации IgG (последнее исследование в возрасте 13 мес — 2 г/л).

Все это время ребенок прибавлял в весе, рос и развивался по возрасту. В 1 год его вес был равен 10 800 г, рост — 81 см, прорезалось 8 зубов. Пациент был переведен на питание адаптированной смесью.

В настоящее время получает обычный стол, кишечной дисфункции нет, психомоторное развитие соответствует возрасту. В Научном центре здоровья детей продолжается наблюдение за пациентом. Прогноз для жизни расценен как благоприятный.

### Обсуждение

Представленный клинический случай демонстрирует очень редкую ситуацию — мальротацию кишечника, осложнившуюся протеинтеряющей энтеропатией. В генезе заболевания ключевую роль играли гиперфиксация ДПК с формированием патологического дуоденоюнального изгиба и, по всей вероятности, рецидивирующий заворот средней кишки.

Многообразие возможных вариантов нарушений ротации и фиксации кишечника, несомненно, затрудняет постановку диагноза [22]. При этом стертость клинических признаков при некоторых расстройствах поворота средней кишки зачастую приводит к длительному диагностическому поиску [23]. Именно в таких ситуациях тщательный сбор анамнеза и осмысление всех клинических симптомов сквозь призму знаний сути патологии могут дать ключ к трактовке инструментальных методов исследования. В нашем случае обследование и лечение ребенка проходило в условиях федерального центра, что обусловило возможность применения комплексного мультидисциплинарного подхода и своевременной диагностики редкого заболевания.

При подозрении на мальротацию в обязательном порядке выполняется ирригография для выявления аномального расположения слепой кишки, однако, учитывая

то, что в 20–40% случаев при мальротации *caecum* расположена в обычном месте, выполняют рентгеноконтрастное исследование верхних отделов желудочно-кишечного тракта. Это исследование некоторые зарубежные авторы называют «золотым стандартом» при подозрении на мальротацию [24]. В нашем случае весь комплекс обследований, входящий в стандарты, был выполнен.

Другие методы исследования в случае мальротации кишечника могут дополнить диагностику. Так, при УЗИ существует возможность установить заворот петель кишки вокруг брыжейки (так называемый симптом джакузи) [25]. При проведении компьютерной томографии или подобный признак называют «симптомом вихря» или «вихрь-знаком». Однако заворот средней кишки не всегда сопровождается мальротацией. При ангиографии возможно выявление *barberpole* (спирального) симптома, характерного для извитого хода верхней брыжеечной артерии и ее ветвей или перекрута с верхней брыжеечной веной [26]. В нашем клиническом наблюдении при УЗИ и компьютерной томографии не было обнаружено вышеуказанных симптомов, что подтвердило интермиттирующий характер заворота средней кишки.

Некоторые нарушения ротации и фиксации кишечника не манифестируют с рождения, однако приводят к вторичным изменениям стенки кишки, брыжейки и в конечном итоге к серьезной патологии, требующей оперативного вмешательства [26].

Что касается причин лимфообструкции, то в литературе среди прочих перечисляют саркоидоз, воспалительные заболевания кишечника или лимфому, а также повышение давления в лимфососудах при сердечной недостаточности, рестриктивном перикардите [27]. Вторичная КЛ может встречаться при синдромах Клиппеля–Треноне, Реклинггаузена, Нуна и Хеннекама. Часто КЛ является осложнением операции Фонтена (создание одножелудочкового кровообращения с обходом правых отделов сердца) при врожденных пороках сердца.

Существуют работы, в которых авторы предполагают, что после операции Фонтена КЛ развивается вторично на фоне сниженного потока в мезентериальной артерии в комбинации с повышенным венозным давлением, что приводит к снижению мезентериальной перфузии, повреждению мембран кишечной стенки и потере через них белков. Аналогичные последствия могут быть и у воспалительных заболеваний (в работе описано диагностированное у пациентов повышенное абдоминальное сосудистое сопротивление и повышение концентрации маркеров воспаления) [28]. В описанном нами наблюдении не отмечалось повышения содержания С-реактивного белка и прокальцитонина в сыворотке крови, имел место умеренный лейкоцитоз в клиническом анализе крови.

Нарушения мезентериального кровообращения также могут встречаться при различных вариантах мальротации и гиперфиксации кишечника, диагностика подобных состояний сложна. В литературе мы обнаружили только 3 случая описания вторичной кишечной лимфангиэктазии на фоне мальротации кишечника [29–31].

### Заключение

Представленное нами клиническое наблюдение подчеркивает многообразие проявлений нарушения ротации и фиксации кишечника. Междисциплинарный подход, своевременное обследование и правильная его оценка обусловили выздоровление ребенка.

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

- Davis N.M., Kurpios N.A., Sun X., Gros J., Martin J.F., Tabin C.J. The chirality of gut rotation derives from left-right asymmetric changes in the architecture of the dorsal mesentery. *Dev. Cell.* 2008; 1: 134–145.
- McVay M.R., Kokoska E.R., Jackson R.J., Smith S.D. Jack Barney Award. The changing spectrum of intestinal malrotation: diagnosis and management. *Am. J. Surg.* 2007; 6: 712–717.
- Ingoe R., Lange P. The Ladd's procedure for correction of intestinal malrotation with volvulus in children. *AORN J.* 2007; 85 (2): 300–308.
- Williams H. Green for danger! Intestinal malrotation and volvulus. *Arch. Dis. Child. Educ. Pract. Ed.* 2007; 92 (3): 87–91.
- Penco J.M., Murillo J.C., Hernández A., de La Calle Pato U., Masjoan D.F., Aceituno F.R. Anomalies of intestinal rotation and fixation: consequences of late diagnosis beyond two years of age. *Pediatr. Surg. Int.* 2007; 23 (8): 723–730.
- Torres A.M., Ziegler M.M. Malrotation of the intestine. *World J. Surg.* 1993; 3: 326–331.
- Eksarko P., Nazir S., Kessler E. Duodenal web associated with malrotation and review of literature. *J. Surg. Case Rep.* 2013; 12: 110.
- Mall F.T. Development of the human intestine and its position in the adult. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 1898; 9: 197–210.
- Ladd W.E. Congenital obstruction of the duodenum in children. *N. Engl. J. Med.* 1932; 206: 277–283.
- Баиров Г.А. Хирургия пороков развития у детей. *Л.: Медицина.* 1968. 688 с.
- Баиров Г.А., Дорошевский Ю.Л., Немилова Т.К. Атлас операций у новорожденных. *Л.: Медицина.* 1984. 256 с.
- Долецкий С.Я., Гаврюшов В.В., Акопян В.Г. Хирургия новорожденных. *М.* 1976. 320 с.
- Литтманн И. Оперативная хирургия. *Буданеум.* 1985. 1176 с.
- Ашкрафт К.У., Холдер Т.М. Детская хирургия. Пер. с англ. *СПб.* 1996. 384 с.
- Puri P., Höllwarth M. E. *Pediatric Surgery. Berlin: Springer.* 2006. 646 p.
- Martin V., Shaw-Smith C. Review of genetic factors in intestinal malrotation. *Pediatr. Surg. Int.* 2010; 26 (8): 769–781.
- Kellogg E.L., Kellogg W.A. Chronic duodenal obstruction with duodeno-jejunostomy as a method of treatment report of forty one operations *Ann. Surg.* 1921; 73 (5): 578–608.
- Michael H. Childress. Duodenum Inversum. *J. Natl. Med. Assoc.* 1979; 71 (5): 515–516.
- Wayne E.R., Burrington J.D. Extrinsic duodenal obstruction in children. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1973; 136 (1): 87–91.
- Waldmann T.A., Steinfeld J.L., Dutcher T.F., Davidson J.D., Gordon R.S. The role of the gastrointestinal system in «idiopathic hypoproteinemia». *Gastroenterology.* 1961; 41: 197–207.
- Proujansky R. Protein losing enteropathy. In: *Pediatric gastrointestinal disease.* J. Walker (ed.). *Hamilton: BC Becker.* 2000. P. 89–95.
- Тошовски В. Острые процессы в брюшной полости у детей. *Прага: Авиценум.* 1987. 472 с.
- Гераськин А.В., Мокрушина О.Г., Морозов Д.А., Ахунзянов А.А., Гумерова А.А. Состояние и перспективы совершен-

- ствования хирургической помощи новорожденным с пороками развития. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2009; 54 (6): 7–12.
24. Murphy F.L., Sparnon A.L. Long term complications following intestinal malrotation and the Ladd's procedure: a 15 year review. *Pediatr. Surg. Int.* 2006; 22 (4): 326–329.
  25. Orzech N., Navarro O.M., Langer J.C. Is ultrasonography a good screening test for intestinal malrotation? *J. Pediatr. Surg.* 2006; 41 (5): 1005–1009.
  26. Ziegler M.M., Azizkhan R.G., Weber T.R. Operative pediatric surgery. *New York: McGraw-Hill Professional*. 2003. 1340 p.
  27. Davidson J.D., Waldmann T.A., Goodman D.S., Gordon R.S. Protein losing gastroenteropathy in congestive heart-failure. *Lancet*. 1961; 1 (7183): 899–902.
  28. Ostrow A.M., Freeze H., Rychik J. Protein losing enteropathy after fontan operation: investigations into possible pathophysiologic mechanisms. *Ann. Thorac. Surg.* 2006; 82 (2): 695–700.
  29. Iida F., Wada R., Sato A., Yamada T. Clinicopathologic consideration of protein-losing enteropathy due to lymphangiectasia of the intestine. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1980; 151 (3): 391–395.
  30. Tamamoto F., Takeuchi N., Shindou N., Sumi Y., Katayama H. A case of infantile protein losing gastroenteropathy due to chronic volvulus. *Rinsho Hoshasen*. 1988; 33 (4): 511–514.
  31. Zellos A., Zarganis D., Ypsiladis S., Chatzis D., Papaioannou G., Bartsocas C. Malrotation of the intestine and chronic volvulus as a cause of protein-losing enteropathy in infancy. *Pediatrics*. 2012; 129 (2): 515–518.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Морозов Дмитрий Анатольевич**, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ детской хирургии Научного центра здоровья детей, заведующий кафедрой детской хирургии и урологии-андрологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-13-17, e-mail: damorozov@list.ru

**Пименова Евгения Сергеевна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры детской хирургии и урологии-андрологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, врач отделения общей хирургии НИИ детской хирургии Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-14-55, e-mail: evgeniyapimenova@list.ru

**Таточенко Владимир Кириллович**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отделения пульмонологии и аллергологии НИИ педиатрии Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-21, e-mail: tatovk@yandex.ru

**Бакрадзе Майя Джемаловна**, доктор медицинских наук, заведующая отделением диагностики и восстановительного лечения НИИ педиатрии Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-21, e-mail: bakradze.md@yandex.ru

**Гадлия Диана Джансуховна**, аспирант отделения диагностики и восстановительного лечения НИИ педиатрии Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-07-05, e-mail: apsni@inbox.ru

**Морозова Ольга Леонидовна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической физиологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова

Адрес: 119048, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, тел.: +7 (499) 622-96-47, e-mail: morozova\_ol@list.ru

**Талалаев Александр Гаврилович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий патологической лабораторией Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-21.

А.А. Тотолян

НИИ экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Российская Федерация

## Прошлое и настоящее *Streptococcus pyogenes*: некоторые факторы патогенности и их генетическое детерминирование

В настоящем обзоре рассматриваются два аспекта, относящихся к *Streptococcus pyogenes*, — возбудителю распространенных инфекций человека и их осложнений. В первой части обсуждается вопрос о сравнительной информативности лабораторных диагностических подходов и методов второй половины прошлого века, а также методов (преимущественно молекулярно-генетических), разработанных за последние 20 лет. Во второй части оценивается роль ведущих микробных факторов в патогенности возбудителя и их участие в патогенезе заболеваний, а также приводятся современные данные о различных нехромосомных элементах во внутри- и межвидовом генетическом обмене и в формировании агрессивных свойств патогена. Существующие в настоящее время возможности для детальной характеристики штаммов стрептококка группы А являются базой современной молекулярной эпидемиологии и должны использоваться лабораторной службой страны.

**Ключевые слова:** *S. pyogenes*, диагностика, патогенность, генетический обмен и регуляция.  
(Вестник РАМН. 2015; 1: 63–69)

63

### Введение

В настоящем обзоре обобщены данные последних двух десятилетий о *Streptococcus pyogenes* (стрептококк группы А, СГА) как о возбудителе распространенных местных, системных и генерализованных инфекций, а также осложнений со стороны жизненно важных органов человека. Они подчеркивают способность микроба эволюционировать, изменять свои свойства и функции. Разносторонние сведения о нем позволяют выявить тенденции в динамике патогенности и пластичности СГА, а также влияют на оценку реакций инфицированного организма на патогенные факторы *S. pyogenes*. Соответственно, становятся понятными отдельные сдвиги в структуре и клинической картине стрептококковых заболеваний, а также в цикличности эпидемиологических процессов, возникающих под прессом коллективного иммунитета к тем или иным факторам патогенности СГА в условиях неконтролируемого лечения антибиотиками. В северных широтах на второй план отступают манифест-

ные формы скарлатины, гломерулонефрита, ревмокардита и пuerперального сепсиса. С 80-х гг. XX в. и до настоящего времени видное место в структуре заболеваемости заняли вернувшиеся после вспышек 20-х гг. высоколетальные и плохо поддающиеся терапии инвазивные формы СГА-инфекции (некротический фасцит / миозит, синдром токсического шока, сепсис).

Тем не менее ежегодный уровень заболеваемости, инвалидизации и смертности, обусловленный *S. pyogenes* (и, соответственно, вызываемый им социально-экономический ущерб), еще сохраняется высоким независимо от очень высокой чувствительности возбудителя к β-лактамам антибиотикам пенициллинового и цефалоспоринового ряда. По неполным данным 2009–2010 гг. (сведения по России отсутствуют), в мире ежегодная заболеваемость, вызываемая *S. pyogenes*, исчисляется более чем 616 млн случаев тонзиллофарингитов, 111 млн случаев пиодермий и 660 тыс. случаев инвазивных инфекций, т.е. в среднем ежегодно около 10% жителей Земли переносят СГА-инфекцию в той или иной форме. Погибают

А.А. Totolian

Research Institute for Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

## Past and Present of *Streptococcus pyogenes*: Some Pathogenic Factors and Their Genetic Determination

In this review two aspects dealt with *Streptococcus pyogenes* — one of the leading agent responsible for infectious diseases and another related to their complications in humans worldwide — are given. In the first part of the review the comparative evaluation of laboratory diagnostic approaches and methods used in the second half of the twentieth century and molecular technologies developed during last twenty years are described. In the second part the role of the main microbial pathogenic factors as well as the data on intra- and interspecies genetic exchange with extrachromosomal genetic elements and their influence on biological properties of the pathogen are discussed. Essential for today possibilities for molecular epidemiology of streptococcal pathology approaches must be introduced in diagnostic laboratories within the country.

**Key words:** *S. pyogenes*, diagnostics, pathogenicity, genetic exchange and regulation.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 63–69)

более 0,5 млн человек, в основном от инвазивных заболеваний. Еще высок уровень постинфекционных осложнений: ревматической лихорадкой заболевают около 15,6 млн, а острым гломерулонефритом — более 0,5 млн человек; умирают 233 тыс. и 5 тыс. человек, соответственно. Именно по этой причине эксперты ВОЗ рассматривают СГА как одну из ведущих причин глобальной заболеваемости и смертности [1]. В данных показателях не нашли отражения формы СГА-инфекции с аллергическим компонентом (скарлатина, рожа), а также заболевания, вызываемые стрептококками других групп (В, С и G).

До настоящего времени не вполне понятно, в какой мере приведенная картина связана с изменчивостью возбудителя. Очевидно лишь, что штаммы СГА 40–60-х гг. XX в. трудно сопоставимы с аналогичными штаммами, циркулирующими сегодня, т.к. они разнятся по ведущим признакам: типово-подтиповой вариабельности, нехромосомной наследственности, токсигенности, а также энзиматической активности. Существенные различия в методических и технологических подходах сравниваемых периодов полностью исключают это сопоставление. На смену методам классической микробиологии и серологии, анализу антигенной и экстрацеллюлярной активности *S. pyogenes* пришла современная генетика и молекулярная биология, обеспечившие успехи микробиологии, поэтому скудная информация прошлого несопоставима с богатством данных настоящего. Тем не менее расширение наших сведений о СГА допускает обоснованность новых представлений об изменчивости возбудителя и связанной с ней картины СГА-инфекций. Соответственно, изменились также методы и схемы лабораторной диагностики.

В прошлом видное место в диагностике СГА-заболеваний отводило иммунологическим реакциям нейтрализации биоактивных веществ микроба или, как их называли, «токсинов частного приложения» [2]. До недавнего времени ими пользовались для титрования в крови пациентов антител к секретируемым продуктам возбудителя: стрептолизину-О (кардиотропному гемолизину), гиалуронидазе (фактору проницаемости) СГА, дезоксирибонуклеазе В и никотинамид-адениндинуклеотидазе [3]. Уровень иммунного ответа на 2–3 этих антигена в 80–95% случаев позволял отличить истинную стрептококковую патологию от носительства микроба. Со временем ценность этих показателей очень пострадала по следующим причинам:

- достоверными следовало считать данные о положительной динамике титров антител минимум к двум антигенам при одновременном тестировании парных и полученных в разные периоды болезни сывороток пациента;
- интенсивная антибиотикотерапия, особенно в начале болезни, подавляла фокус инфекции, что негативно сказывалось на динамике серологических показателей;
- трактовка результатов анализа в большей мере зависела от качества сывороток пациента (содержания в них липопротеидов, присутствия окисленных продуктов) и продукции аналогичных антигенов стрептококками групп С и G;
- в каждом тесте требовалась контрольная сыворотка с известным титром антител либо стандарт антител.

Совокупность приведенных требований, несомненно, негативно влияла на информативную ценность тестов. Здесь следует добавить, что указанные ферменты СГА едва ли можно отнести к протективным антигенам, которые позволяют по иммунному ответу «судить» о степени защищенности организма от инфекции. Помимо этого,

если принять во внимание, что указанные продукты разных штаммов родственны по антигенности, а СГА-инфекция у людей часто возникает повторно как результат заражения штаммом СГА иного серотипа, то остается непонятным, как следует трактовать повышение титров антител к ним: как первичную реакцию на антигенный стимул или как проявление иммунологической памяти. Таким образом, современная лабораторная практика не имеет в своем распоряжении достоверных и простых в исполнении методов для оценки уровня иммунологического ответа организма на инфицирование СГА.

Для изучения патогенеза стрептококковых заболеваний и их лабораторной диагностики наибольший интерес представляют следующие продукты микробной клетки: белки М-семейства (ведущие факторы болезнетворности СГА), эритрогенные токсины (ведущие факторы в генезе скарлатины) и А-полисахарид (маркер групповой идентичности СГА). Следует напомнить, что иммунитет к СГА является типоспецифическим, т.е. он определяется по наличию и концентрации в сыворотке крови людей типовых анти-М-антител, выявляемых в различных вариантах бактерицидного теста. Наличие антител к М-белкам определенного антигенного типа еще не исключает возможности повторных эпизодов стрептококковой инфекции при заражении штаммами различных серотипов. В настоящее время известно около 200 антигенных типов и подтипов СГА. Их география определяется климатическими и эпидемиологическими условиями региона, поэтому антигенный состав вакцин, разрабатываемых на основе М-белков, свободных от их перекрестно-реагирующих с тканями человека антигенных доменов, должен определяться циркулирующими в конкретном регионе М-типами СГА. Кроме того, смена циркулирующих в регионе М-типов СГА должна периодически приводить к обновлению антигенного состава вакцины [4].

Серотипы СГА условно, т.е. без четких границ, могут быть подразделены на «глочные» и «кожные», соответственно, чаще вызывающие тонзиллофарингиты или пиодермии. Среди «кожных» чаще встречаются М-типы 2, 4, 9, 11, 13, 22, 25, 28, 48, 49, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 66, 68 и др. Они отличаются тем, что продуцируют фактор помутнения сыворотки (serum opacity factor, SOF) — энзим, гидролизующий α-липопротеиды человека и некоторых млекопитающих. Типовая принадлежность SOF совпадает с их распределением по М-типу [5]. Заболевания, вызываемые данными типами, чаще осложняются острым гломерулонефритом (poststreptococcal glomerulonephritis, PSGN) либо IgA-нефропатиями [1], поэтому многие из них относят к «нефритогенным» типам в отличие от «ревматогенных», или SOF-негативных, осложняющих «глочные» процессы ревматической лихорадкой и ревмокардитом. Классический бактерицидный тест для оценки напряженности типового иммунитета на практике не используют. Для этого целесообразнее применять опсонофагоцитарный тест. В то же время оба теста успешно могут использоваться для определения типа анти-М-антител либо уровня экспрессии М-белка штаммом-возбудителем. Наличие в образцах крови больных нескольких анти-М-антител различной типовой специфичности с высокой вероятностью будет свидетельствовать о наличии у индивида иммунитета к определенному кругу М-типов СГА.

М-тип SOF-положительных СГА может быть также установлен по способности человеческих сывороток от пациентов подавлять активность SOF в реакции нейтрализации. Дело в том, что SOF-положительные штаммы часто встречаются среди СГА, а SOF-фактор служит сильным



антигеном, поэтому в крови взрослых долго может сохраняться тот или иной набор типовых анти-SOF-антител. Оценку реакции нейтрализации следует выполнять с осторожностью [5], пользуясь оттитрованными анти-SOF-сыворотками человека в качестве положительного контроля. Этот подход в разных модификациях широко использовался в исследовательских целях в 80–90-е гг. прошлого века.

Ранее для идентификации СГА применяли реакцию Т-агглютинации микробных клеток посредством коммерческих наборов анти-сывороток к Т-белкам клеточной стенки микроба. Оценка ее результатов вызывала затруднения по причине того, что один и тот же Т-антиген присутствовал в штаммах разных М-типов, а штамм конкретного М-типа мог содержать ряд Т-белков. Эту сложность преодолевали путем составления кластеров М-типов, в которых встречался один и тот же Т-белок либо несколько взаимосвязанных Т-белков [3]. Сегодня к Т-типированию прибегают редко, главным образом при трудностях М-типирования. Его, возможно, ожидает судьба многих методов диагностики прошлого. Они были определяющими для своего времени, но, сослужив немалую службу, сменились новыми, более точными, простыми в исполнении (в т.ч. автоматизированными) и экспрессными методами, подходами и технологиями.

В обычных условиях лабораторная и эпидемиологическая диагностика инфекций строится на двух «китах»: оценке иммунологических реакций организма и характеристике инфекционного агента. В разные периоды прогресса науки баланс этих двух подходов может быть смещен в ту или иную сторону. Если в прежнее время для диагностики достаточно было нескольких иммунологических реакций на антитела к антигенам микроба (в случае СГА — антистрептолизин-О и анти-ДНКазы В) и минимума сведений о возбудителе (в случае СГА — вид колоний, характер гемолиза, тип Т-белка), то в настоящее время этот объем информации недостаточен, поскольку он ограничивает подходы для терапии и сказывается на полноте и качестве эпидемиологического анализа. Сегодня в диагностике СГА-инфекции микробное звено доминирует над иммунологическим. Очевидно, с годами это отставание исчезнет по мере накопления информации о факторах и механизмах иммунитета против стрептококков благодаря работам по конструированию рекомбинантных вакцин на основе протективных антигенов микроба.

Необходимо отметить, что учение о стрептококках, как будет ясно из дальнейшего изложения, ушло далеко вперед и достигло того рубежа, который допускает многофакторный мониторинг циркулирующих штаммов микроба и эпидемиологический надзор за вызываемой ими заболеваемостью по генетическим и молекулярным маркерам возбудителя. Некоторые из таких подходов приводятся ниже. К сожалению, лабораторная диагностика в области стрептококковой инфекции значительно отстает (в т.ч. и в России) от накопленных мировой наукой знаний о патогенных стрептококках, что наглядно проявляется в практике работы отечественных лабораторий. Отсутствие или ограниченность статистики по стрептококковой заболеваемости создают ложное представление о недостаточной актуальности данной патологии. Это, в свою очередь, приводит к отсутствию четкой позиции в вопросе стратегии и тактики борьбы с СГА-инфекцией у органов здравоохранения и негативно влияет на развитие нужной лабораторной базы. Слабость такой базы сказывается на патогенетической терапии СГА-заболеваний и их осложнений со стороны жизненно важных органов

и систем. Итог чреват ростом инвалидизации среди детского, подросткового и юношеского населения.

Согласно ранним работам школы В.И. Иоффе [2], вероятность перехода СГА-инфицирования в scarlatinозный процесс определяется наличием или отсутствием в сыворотке крови людей антител к эритрогенному токсину А (токсин Дика или термолабильная фракция культуральной жидкости СГА). В середине XX в. в исследованиях по клинической и эпидемиологической иммунологии на многотысячных организованных детских контингентах была применена титрационная кожная проба, согласно которой лица, перенесшие scarlatinу, в отличие от восприимчивых к ней, не реагировали воспалительной реакцией на внутрикожное введение этого токсина (1–4–10 кожных доз). Посредством теста по Иоффе определяли наличие и уровень антитоксического иммунитета у разных групп детей (больные scarlatinой, ангиной, носители инфекции, контактные лица в очагах инфекции и здоровые индивидуумы). В этих исследованиях была убедительно доказана ведущая роль токсина А в патогенезе scarлатины. Показано снижение антитоксического иммунитета при ранней пенициллинотерапии пациентов, что нередко приводило к повторным эпизодам болезни. В настоящее время в связи с тем, что scarлатина перестает быть частым явлением в северных широтах либо вследствие изменения ее характеристик, кожная проба, успешно применявшаяся ранее в эпидемиологии, уже не используется. С позиций сегодняшних знаний об эритрогенных токсинах СГА остается неясной роль других эритрогенных токсинов, в частности С, Н и I (кодируются, как и токсин А, генами умеренных фагов), в патогенезе scarлатины. Между тем упомянутый подход мог бы быть использован для оценки современной scarлатины, тем более что чистые препараты названных токсинов в настоящее время могут быть получены генно-инженерным путем. Мало информации имеется и о пирогенных токсинах (кроме токсина В), кодируемых хромосомными генами, в генезе стрептококковых инфекций [6].

Известно, что на долю *S. pyogenes* приходится 90% всех заболеваний, вызываемых стрептококками. Сходные, к примеру, по клинической картине инвазивные заболевания могут быть вызваны также стрептококками групп В, С и G. Инвазивность штаммов определяется суперантигенами, каковыми являются различные токсины, широко представленные не только у СГА, но и у других видов β-гемолитических стрептококков. Их присутствие у многих видов сегодня определяет межвидовой обмен соответствующими генами [7]. Эти вопросы, как и новые данные по М-белкам, обсуждаются ниже.

В отличие от М-белка или эритрогенного токсина информация о патогенных функциях полисахарида СГА скудна. Эта субстанция определяет групповую принадлежность штаммов. За последние 25 лет для группирования патогенных стрептококков получили распространение экспресс-методы диагностики, в которых HCl- либо HNO<sub>2</sub>-экстракты культур, содержащие полисахарид, агглютинируют калиброванные частицы латекса либо клетки *Staphylococcus aureus*, несущие протеин А (является IgG Fc-рецептором для IgG<sub>1,2</sub> и IgG<sub>4</sub>), с нагруженными на них молекулами специфических антител к конкретному групповому полисахариду. Полисахарид может быть также успешно экстрагирован непосредственно из первичного материала на тампоне, что сокращает время постановки реакции до 15 мин. Экспресс-методы чувствительны и просты в исполнении. Их широко используют, особенно с целью предварительной диагностики.

Для оценки иммунитета к СГА делались попытки титрования антител к А-полисахариду в крови больных. Однако рекомендованный для этого метод фактически не используется по причине недостаточной информативности.

Возвращаясь к вопросу об эволюции патогенных СГА, важно выделить некоторые механизмы их изменчивости:

- антигенный дрейф микроба под влиянием иммунологических факторов организма, в частности антител к различным доменам протективных антигенов микроба;
- внутри- и межвидовой перенос нехромосомных генетических факторов (умеренные бактериофаги, плазмиды, транспозоны, IS-элементы или встраивающиеся ДНК последовательности и «острова патогенности»);
- реакции адаптивных регуляторных систем бактерий на мутагенные и стрессорные воздействия окружающей агрессивной среды их обитания.

Имеются все основания допускать роль этих механизмов в генетическом полиморфизме и в пластичности бактерий, которые определяют клональное многообразие возбудителей и разные формы патологии, ее особенности и клинические проявления. Нет такой клинической дисциплины, в которой в той или иной форме не нашлось бы место для патологии, вызываемой *S. pyogenes*. Многоликость данной патологии отчасти зависит от многообразия комбинаций признаков патогенности в штаммах и указывает на важность изучения ведущих факторов патогенности СГА.

### М-белки и их антигенный дрейф

Упомянутые выше М-белки (Emm, Mgr, Enn, Sic и др.) являются ведущими факторами болезнетворности СГА, преимущественно определяя антифагоцитарные и антикомплементарные свойства микроба, типовой характер протективного иммунитета и лиганд-рецепторное взаимодействие со многими белками крови (иммуноглобулинами G и A, альбумином, кининогеном, плазминогеном, фибронектином и фибриногеном, фракциями комплемента C<sub>4</sub> и H). Взаимодействие с ними не проходит бесследно для организма хозяина. В частности, благодаря «экранированию» микробных клеток это взаимодействие препятствует их опсонизации и фагоцитозу; оно нередко сопровождается продукцией антител к перечисленным белкам крови и формированием циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), часто приводящему к выраженным сдвигам в системе комплемента и цитокиновой сети с последующим формированием ряда патологических проявлений и процессов в органах и тканях. К примеру, неиммунное связывание М-белков с иммуноглобулинами за счет феномена Fc-взаимодействия приводит к синтезу анти-IgG-антител, образованию IgG – анти-IgG-комплексов и в конечном итоге к индукции патологии в жизненно важных органах (почках, сердце), нередко осложняющей СГА-инфекцию. Fc-рецепторная функция М-белков в отношении IgG [8], и, по-видимому, IgA [1], и иммунных комплексов различного генеза [9] оказалась базовым механизмом, определяющим развитие иммунного воспаления в тканях почечных гломерул и миокарда. Штаммы СГА, не обладающие Fc-рецепцией либо лишенные этой способности, не обладают нефритогенностью или кардиотропностью.

Гены, кодирующие М-белки, входят в состав *Mga*-регулона [10] в различных сочетаниях, в связи с чем

структура М-белков конкретного типа варьирует в пределах различных паттернов [1], т.е. различные М-типы СГА связывают белки крови в различных сочетаниях. Можно допустить, что взаимодействие с разными белками — одно из многих проявлений способности СГА вызывать патологические процессы в органах и тканях. К примеру, штаммы, относящиеся к так называемому Е-паттерну (типы М4, М60, М63), могут приводить к IgA-нефропатиям [1]. В соответствии с изложенным, штаммы от носителей СГА, несущие природную делецию в промоторной области гена-регулятора *mga* [11], зачастую оказываются авирулентными, т.е. неспособными синтезировать М-белки. По этой причине они бывают лишены Fc-рецепторной способности и не могут вызывать развитие осложнений [9].

У разных М-типов СГА из всех М-белков постоянно присутствует Emm-белок, что позволило принять кодирующий его *emm*-ген в качестве стандарта для *emm*-генотипирования *S. pyogenes* [12]. Как известно, М-белки содержат гипервариабельную, вариабельную и консервативную область. Кодирующие нуклеотидные последовательности для первой (90 п.н. с 5'-конца *emm*-гена и следующие 60 п.н.) из них определяют конкретный М-тип или подтип СГА. На сегодня описано около 200 *emm*-типов и подтипов, хотя в 60–80-х гг. было известно лишь около 85 М-типов. Иммунитет к СГА является типовым, т.е. по существу он определяется преимущественно антителами к вариабельным фрагментам Emm-белков [13]. Под их «давлением» в аминокислотной цепи белка могут возникать ошибки, приводящие к так называемому антигенному дрейфу в М-белке и формированию нового генотипа. Таким путем микроб пытается «ускользнуть» от губительного действия специфических опсонизирующих антител и приобретает новую «личину» под новым номером. В случае, когда 90-нуклеотидная последовательность испытуемого штамма СГА оказывается гомологичной сиквенсам известных *emm*-типов менее чем на 92%, это становится основанием для регистрации нового *emm*-типа. Новый подтип регистрируют при любых нуклеотидных заменах в составе последующих 60 п.н. [12]. Природа данного феномена указывает на теоретически неограниченную возможность возникновения новых *emm*-типов и подтипов с последующим преобладанием в циркуляции в силу отсутствия у населения специфического иммунитета к ним.

Очевидно, что *emm*-типирование отличается высокой точностью и пришло на смену громоздкому, затратному и чреватому неспецифическими реакциями серологическому методу М- и SOF-типирования. Каждому географическому региону присущ свой определенный набор доминирующих *emm*-типов, а различные стрептококковые заболевания или их осложнения нередко бывают ассоциированы с конкретными *emm*-типами. Эпидемиологическая ценность этого теста очевидна. Наличие у конкретного лица типового иммунитета при необходимости по-прежнему следует определять по поведению клеток (фагоцитарный индекс) типового штамма в опсонофагоцитарном тесте в смеси с исследуемой сывороткой. Типы *S. pyogenes*, не находящие условий для паразитирования, могут исчезать из циркуляции под давлением факторов коллективного иммунитета. При его снижении они нередко возвращаются и находят новую нишу. Типичным примером служит тип М1, который перестал высеваться в большинстве стран мира в середине прошлого века и «вернулся» в конце 80-х гг., вызывая высоколетальные инвазивные заболевания.

### MLST-генотипирование

Технологически *emm*-генотипирование СГА имеет общие черты с мультилокусным сиквенсным типированием (MLST), которое является инструментом углубленного эпидемиологического анализа. Штаммы СГА того или иного *emm*-генотипа сегодня могут быть подвергнуты клональному анализу в MLST. Его ST-тип определяют, сопоставляя сиквенсы внутренних областей 7 генов «домашнего хозяйства» испытуемого клона с базой данных в Gene-Bank с целью выявления его аллельного профиля по этим генам и составления формулы ST-типа [14]. Для ST-генотипирования используют ПЦР с праймерами на ряд генов: глюкозокиназы (*gki*), транспортного белка для глутамина (*gtr*), глутаматрацемазы (*murl*), белка репарации неправильно спаренных нуклеотидов (*mutS*), транскетотазы (*recP*), ксантин-фосфорибозилтрансферазы (*xpt*) и ацетил-КоА-ацетилтрансферазы (*yigL*). При этом будут получаться амплификаты размером 405–498 п.н. для их последующего секвенирования и получения сравнительных данных. В настоящее время для СГА установлено более 600 ST-генотипов, т.е. на каждый *emm*-генотип в среднем приходится по 3 ST-типа, что значительно повышает дискриминационный уровень данного подхода. Клоны таких генотипов, как ST15 и ST28, известны в качестве возбудителей инвазивных форм СГА-инфекции.

MLST обладает высокой точностью и воспроизводимостью результатов, т.е. качествами, необходимыми для эпидемиологического анализа. Недостатком является относительная дороговизна по сравнению с *emm*-генотипированием.

### Обмен нехромосомными генетическими факторами

#### Эритрогенные токсины и роль фагов

Согласно данным литературы 60-х гг. XX в., синтез эритрогенного токсина А (SpeA) штаммами СГА связан с феноменом их фаговой конверсии [15]. Позже были обнаружены эритрогенные токсины (ЕТ) иной антигенной специфичности. Они получены в виде чистых кристаллических белков, что позволило изучить их аминокислотную и пространственную структуру, а также выявить активные центры. Как и токсин А, эритрогенные токсины SpeC, SpeH, SpeI (кроме SpeB, SpeG и некоторых других) имеют фаговое происхождение, а наличие в геномах бактерий или их фагов *spe*-генов определяют при помощи ПЦР. Конкретные *spe*-гены ассоциированы с геномами различных умеренных фагов СГА. Они встроены в разные участки генома бактерии посредством специфических ферментов — интеграз (*int*), также кодируемых фаговыми генами. Штаммы СГА обычно несут по несколько геномов профагов или их фрагменты и различаются по сочетанию *spe*- и *int*-генов. Соответственно, спектры токсигенности штаммов должны различаться и определяться циркулирующими в каждом регионе линиями фагов.

На предмет распределения *spe*-генов были изучены коллекции штаммов СГА типов *emm1* и *emm12*, выделенные в регионах Санкт-Петербурга и Пекина [16]. В обеих коллекциях лизогения, т.е. носительство умеренных фагов, носила выраженный характер: она встречалась у 100% штаммов, и в геноме каждого было обнаружено не менее 2–3 профаговых геномов. Обращало на себя внимание и то, что штаммы типа *emm1* резко отличались от штаммов типа *emm12* по набору *spe*-генов. Первые в обоих наборах несли только гены *speA* (87–100%) и *speC*

(59–97%), тогда как вторые вместо *speA* (0%) содержали гены *speH* (94–100%) и *speI* (94%), а также *speC* (89–100%). В каждом наборе штаммов встречаемость генов *speA* и *speC* находилась в обратном соотношении: чем реже обнаруживался *speA*, тем чаще встречался *speC*, и наоборот. Это обстоятельство, возможно, подтверждает версию о том, что среди людей вырос иммунитет к токсину А, и на смену ему идет токсин С или другие токсины, изменившие «лицо» современной скарлатины. Интересно, что в пекинских штаммах обоих *emm*-типов с постоянством (100%) выявлялся и другой фаговый ген (*ssa*), кодирующий суперантиген СГА — признак, характерный для штаммов с инвазивной потенциальностью [16]. Эта находка согласуется также с представлением об эндемичности штаммов из Китая, которые в 20–30-х гг. прошлого века вызвали большие вспышки «стрептококковой гангрены» в странах Юго-Восточной Азии. Необходимо отметить, что в наборе штаммов типа *emm49* от пациентов из США с инвазивными формами обнаруживались *spe*-гены токсинов А, Н и I (65–90%), но не С (0%), а также ген *hyl* (100%), кодирующий фаговую гиалуронидазу — фактор генерализации инфекции [17]. Очевидно, что умеренные фаги в большой степени влияют на патогенные свойства СГА, формируя проявления инфекции.

#### Плазмиды и транспозоны в антибиотикоустойчивости СГА

Широкое и бесконтрольное употребление антибиотиков в течение последних десятилетий для лечения инфекций привело к формированию и довольно значительному распространению лекарственной устойчивости у бактерий. Очевидно, что резистентность патогенов сохраняет болезнетворное начало в циркуляции и осложняет борьбу с инфекциями. Не является исключением и *S. pyogenes*. В 80-х гг. XX в. у СГА удалось обнаружить гигантские циркулярные плазмиды, содержащие инвертированные нуклеотидные повторы большой протяженности (до 40–80% контурной длины ДНК). В них обнаружен ряд генов, определяющих устойчивость микроба к МЛС-антибиотикам (макролидам, линкозамидам и стрептограмину) [18]. Они обладали трансмиссивностью при генетическом обмене, а сам перенос ДНК вызывал повышение уровня экспрессии факторов патогенности (М-белка и SOF-фактора) штамма-реципиента.

Не так давно у *S. pyogenes* обнаружили транспозон, гомологичный транспозону *Streptococcus pneumoniae* и несущий ген устойчивости к тетрациклину [16]. С транспозонами связывают как лекарственную устойчивость СГА, так и его способность защищаться от действия факторов иммунитета организма путем инвазии в клетки эпителия человека [19]. То, что бесконтрольное применение антибиотиков приводит к распространению устойчивости, видно из данных масштабного исследования китайских авторов (почти 500 штаммов СГА от больных детей). За десятилетний период между 1993–1994 и 2005–2008 гг. устойчивость к эритромицину выросла с 79 до 94%, у клиндамицину — с 75 до 97%, к телитромицину — с 20 до 88%. Среди штаммов, резистентных к макролидам, резко увеличилось (с 16 до 87%) число штаммов с генами *ermB*, *tetM*, *int*, *xis*, характерными для транспозонов семейства Tn916 *Escherichia coli* [20]. Согласно другому китайскому источнику, за 2009–2010 гг. «нефритогенные» штаммы СГА в 100% случаев оказались устойчивы к эритромицину и тетрациклину. При этом штаммы от других больных СГА-инфекциями были устойчивы к этим антибиотикам в 64 и 91% случаев, соответственно [21]. Сохранность генов устойчивости в природе ведет к их распростра-

нению посредством естественных механизмов горизонтального переноса (плазмиды, транспозоны), играющего ведущую роль во внутри- и межвидовом обмене и генетической гетерогенности штаммов СГА, существенных для понимания эпидемиологических закономерностей и клинических особенностей СГА-инфекций. Изложенное подтверждает положение о том, что микроорганизмы обладают высокой пластичностью в борьбе за выживание.

### Другие факторы изменчивости

Очевидно, что в биологии *S. pyogenes* огромное значение имеют умеренные фаги (они составляют до 12% длины генома), а также плазмиды и транспозоны. Другие генетические элементы здесь играют меньшую роль. Например, у СГА фактически не описаны «острова патогенности» (ОП) — группы генов, контролирующие патогенные, метаболические и транспортные функции, хотя они содержат встраивающиеся IS-последовательности ДНК, обычно фланкирующие транспозоны и ОП и тем самым ведущие к их миграции и горизонтальному переносу генов. Наоборот, у *S. agalactiae* (стрептококк группы В) умеренные фаги встречаются редко, в то время как ОП чрезвычайно распространены (описано 15 таких образований) [22]. У СГА типа *emm1* (strain SF370) при полногеномном анализе наряду с 1752 генами хромосомы и 4 профагами обнаружено 11 IS-элементов [23]. Как мобильные структуры они осуществляют обмен генами между штаммами СГА, а также между СГА и другими β-гемолитическими стрептококками. Так, недавно у всех штаммов СГА типа *emm28* и ряда других генотипов, ассоциированных с заболеваниями женской мочеполовой сферы, описан новый трансмиссивный элемент RD2, кодирующий 7 секретиремых белков. RD2 существует в двух формах: интегрированной в хромосому и плазмидной. Сходный элемент был идентифицирован также у штаммов СГВ, СГС, СГГ, вызывающих инвазивную патологию у человека [24]. Не исключено, что RD2 элемент претендует на роль ОП у штаммов групп А, С и G, поскольку он участвует в межвидовом горизонтальном обмене и при этом кодирует ряд продуктов. Был также описан и другой крупный (64 kb) интегрированный в хромосому конъюгативный элемент СГА, кодирующий 66 открытых рамок считывания (гены переноса, гены патогенности и устойчивости к металлам) [25]. Следует допустить, что он также может служить кандидатом в ОП, поскольку этот элемент, первоначально описанный у СГГ, мог передаваться штаммам СГВ и СГА и обнаруживался в клинических изолятах, что подчеркивает роль горизонтального переноса генов в клинической патологии и в биологии болезнетворных стрептококков разных серологических групп.

### Реакция регуляторных систем бактерий на воздействия агрессивной среды обитания

Проблема регуляции экспрессии отдельных генов или генома в целом — одна из самых молодых в молекулярной микробиологии. Экспрессия генов во многом является ответом бактериальной клетки на колебания ее внешней

и внутренней среды. Ее реакция контролируется многими глобальными и двухкомпонентными регуляторными сенсорными системами, образующими сложноорганизованную сеть, отвечающую за позитивную (включение гена), негативную (выключение гена) и опосредованную (взаимообусловленную) регуляцию экспрессии генов. По сути, сеть формирует адаптивную реакцию клеток возбудителя, а совокупность уровней экспрессии отдельных генов определяет фенотип микроба на отдельном этапе его функционирования. Генетически контролируемый фенотип возбудителя определяет проявления его патогенности.

*S. pyogenes* имеет 40 индивидуальных и 13 двухкомпонентных регуляторов транскрипции генов. Кодируемые ими белки-регуляторы в соответствующих условиях определяют уровень транскрипции конкретного гена, связываясь с его промоторной областью. Так, например, транскрипция *emm*, *mpr*, *enn*-генов и последующая трансляция М-белков регулируется геном *mga* и белком-регулятором Mga. Ген *rgg* и регулятор Rgg контролируют синтез пирогенного токсина SpeB. Соответственно, мутации в генах *mga* и *rgg* приводят к подавлению синтеза М-белков и вирулентности, подавлению продукции SpeB-токсина [26].

При этом мутации в регуляторных генах могут одновременно вызывать опосредованные (т.е. через другие регуляторные звенья) эффекты. Так, *rgg*-мутант с подавленной транскрипцией гена *speB* мог проявлять повышенную продукцию ДНКазы, стрептолизина-О или НАДазы [26].

Гены-регуляторы имеются не только на хромосоме, но и на мигрирующих генетических элементах. Совокупность генов, позитивно или отрицательно регулируемая конкретной регуляторной системой, образует его регулон. Гены, регулируемые непосредственно, «обязательно», составляют «сог»-регулон, а гены, регулируемые опосредованно, — «sub»-регулон. Последний характеризуется высокой штаммовой специфичностью. Новая информация в области регуляции транскрипции генов патогенности должна помочь в расшифровке патогенетических механизмов стрептококковых заболеваний и в выявлении эффективных терапевтических мишеней.

### Заключение

Сопоставление прошлых и современных данных о *S. pyogenes* продемонстрировало огромный прогресс в наших знаниях об их патогенности и о механизмах, контролирующих их генотип и фенотип. Очевидно, что в настоящее время наука обладает многими новыми подходами и технологиями для углубленного изучения возбудителя, механизмов его болезнетворной активности и ответных реакций организма. Новая информация существенна как для совершенствования лабораторной диагностики СГА, так и для изучения вызываемых ими форм заболеваний.

### Конфликт интересов

Обзор подготовлен при поддержке РФФИ в рамках проекта № 14-04-00390а за 2014 г.

### ЛИТЕРАТУРА

- Schmitt R. Studies of the pathogenesis of IgA nephropathy and Henoch–Schonlein purpura with special reference to *Streptococcus pyogenes* infections and complement. Doctoral dissertation. Lund, Sweden. 2012. 89 p.
- Иоффе В.И. Вопросы иммунологии и эпидемиологии скарлатины и стрептококковых инфекций. Л.: Медгиз. 1956. 220 с.
- Джонсон Д., Каплан Э., Шрамек Я., Бицова Р., Гавличек И., Гавличкова Г., Мотлова И., Криз П. Лабораторная диа-

- гностика инфекций, вызванных стрептококками группы А. *Женева*. 1998. 117 с.
4. Smeester P.R., Mardulyn P., Vergison A., Leplae R., Van Melderen L. Genetic diversity of group A *Streptococcus* M protein: implications for typing and vaccine development. *Vaccine*. 2008; 26: 5835–5842.
  5. Maxted W.R., Widdowson J.P. The protein antigens of group A streptococci. In: *Streptococci and Streptococcal Diseases*. L.W. Wannamaker, J.M. Matsen (eds). L.: *Academic Press*. 1972. P. 251–267.
  6. Nelson D.C., Garbe J., Collin M. Cysteine proteinase SpeB from *Streptococcus pyogenes* — a potent modifier of immunologically important host and bacterial proteins. *Biol. Chem.* 2011; 392: 1077–1088.
  7. Kehoe M.A., Kapur V., Whatmore A.M., Musser J.M. Horizontal gene transfer among group A streptococci: implications for pathogenesis and epidemiology. *Trends Microbiol.* 1996; 4 (1): 436–443.
  8. Burova L., Pigarevsky P., Seliverstova V., Gupalova T., Schalen C., Totolian A. Experimental poststreptococcal glomerulonephritis elicited by IgG Fc-binding M family proteins and blocked by IgG Fc fragment. *APMIS*. 2012; 120: 221–230.
  9. Burova L., Pigarevsky P., Duplik N., Snegova V., Suvorov A., Schalen C., Totolian A. Immune complex binding *Streptococcus pyogenes* type M12/emm12 in experimental glomerulonephritis. *J. Med. Microbiol.* 2013; 62 (9): 72–80.
  10. Thern A. Interaction between *Streptococcus pyogenes* and the human immune system. Doctoral dissertation. *Lund, Sweden*. 1998. 56 p.
  11. Flores A.R., Olsen R.J., Wunsche A., Kumaraswami M., Shelburne S.A., Carroll R.K., Musser J.M. Natural variation in the promoter of the gene encoding the Mga regulator alters host-pathogen interaction in group A *Streptococcus* carrier strains. *Infect. Immun.* 2013; 81 (11): 4128–4138.
  12. Facklam R., Beall B., Efstratiou A., Fischetti V., Johnson D., Kaplan E., Kriz P., Lovgren M., Martin D., Schwartz B., Totolian A., Bessen D., Hollingshead S., Rubin F., Scott J., Tyrrell G. Demonstration of emm typing and validation of provisional M types for group A *Streptococci*. *Emerg. Infect. Dis.* 1999; 5: 247–253.
  13. Lannergard J., Gustafson M., Waldemarsson J., Norrby-Teglund A., Stalhammar-Carlemalm M. and Lindahl G. The hypervariable region of *Streptococcus pyogenes* M protein escapes antibody attack by antigenic variation and weak immunogenicity. *Cell Host. & Microbe*. 2011; 10: 147–157.
  14. Enright M.C., Spratt B.G., Kalia A., Cross J.H., Bessen D.E. Multilocus sequence typing of *Streptococcus pyogenes* and the relationships between emm type and clone. *Infect. Immun.* 2001; 69 (4): 2416–2427.
  15. Zabriskie J.B., Read S.E., Fischetti V.A. Lysogeny in streptococci. In: *Streptococci and Streptococcal Diseases*. L.W. Wannamaker, J.M. Matsen (eds). L.: *Academic Press*. 1972. P. 101–120.
  16. Полякова Е.М. Геномный полиморфизм *Streptococcus pyogenes* различных emm-генотипов. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб. 2012. 18 с.
  17. Suvorov A.N., Polyakova E.M., McShen W., Ferretti J. Bacteriophage content of M49 strains of *Streptococcus pyogenes*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2009; 294: 9–15.
  18. Boitsov A., Golubkov V., Iontova I., Malke H., Totolian A. Inverted repeats on plasmids determining resistance to MLS antibiotics in group A streptococci. *FEMS Microbiol. Lett.* 1979; 6: 11–14.
  19. Russell H.H., Shou L., Sriskandan S. Rapid screen for epithelial internalization of Tn917-mutagenized *Streptococcus pyogenes*. *J. Microbiol. Methods*. 2009; 78 (1): 34–39.
  20. Feng L., Lin H., Ma Y., Yang Y., Zheng Y., Fu Z., Yu S., Yao K., Shen X. Macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* from Chinese pediatric patients in association with Tn916 transposons family over a 16-year period. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 67 (4): 369–375.
  21. Zheng M., Jiao Zh., Zhang L., Yu S., Tang G., Yan X., He L., Meng F., Zhao F., Zhang M., Xiao D., Yang Y., Wei N., Zhang J. and Wang Z. Genetic analysis of group A streptococcus isolates recovered during acute glomerulonephritis outbreaks in Guizhou province of China. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47 (3): 715–720.
  22. Kuleshevich E., Grabovskaya K., Leontieva G., Suvorov A. The analysis of group B streptococcal gene sspB1 localized on pathogenicity island. Abstract book of XVIII Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases. *Palermo, Italy*. 2011. 170 p.
  23. Ferretti J.J., McShen W.M., Adjić D., Savic D.J., Savic G., Lyon K., Sezate S., Suvorov A.N., Primeaux C., Kenton S., Lai H., Lin S., Qian Y., Jia H., Zhu H., Ren Q., Najar F.Z., Song L., White J., Yuan X., Clifton S.W., Roe B.A., McLaughlin R. Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001; 98: 4658–4663.
  24. Sitkiewicz I., Green N.M., Guo N., Mereghetti L., Musser G.M. lateral gene transfer of streptococcal ICE element RD2 (region of difference 2) encoding secreted proteins. *BMC Microbiol.* 2011; 11: 65–70.
  25. Davies M.R., Shera J., Van Domselaar G.H., Sriprakash K.S., McMillan D.J. A novel integrative conjugative element mediates genetic transfer from group G streptococcus to other  $\beta$ -hemolytic streptococci. *J. Bacteriol.* 2009; 191 (7): 2257–2265.
  26. Dmitriev A.V., McDowell E.J., Kappeler K.V., Chaussee L.D., Rieck M.S. The Rgg regulation of *Streptococcus pyogenes* influence the utilization of nonglucose carbohydrates, prophage induction, and expression of the NAD-glucohydrolase virulence operon. *J. Bacteriol.* 2006; 188 (20): 7230–7241.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Тотolian Артём Акович**, доктор медицинских наук, академик РАН, главный научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии НИИ экспериментальной медицины  
**Адрес:** 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12, **тел.:** +7 (812) 234-94-77, **e-mail:** totolyan@hotmail.com

Г.Г. Онищенко<sup>1</sup>, И.А. Дятлов<sup>2</sup>, Э.А. Светоч<sup>2</sup>, Н.В. Воложанцев<sup>2</sup>, В.А. Баннов<sup>2</sup>, Н.Н. Карцев<sup>2</sup>,  
В.Н. Борзенков<sup>2</sup>, Н.К. Фурсова<sup>2</sup>, И.Г. Шемякин<sup>2</sup>, А.Г. Богун<sup>2</sup>, А.А. Кисличкина<sup>2</sup>, А.В. Попова<sup>2</sup>,  
В.П. Мякина<sup>2</sup>, М.Г. Теймуразов<sup>2</sup>, О.В. Полосенко<sup>2</sup>, Л.А. Кафтырева<sup>3</sup>, М.А. Макарова<sup>3</sup>, З.Н. Матвеева<sup>3</sup>,  
Т.А. Гречанинова<sup>4</sup>, Н.С. Григорьева<sup>4</sup>, Е.В. Кича<sup>4</sup>, Г.В. Забалуева<sup>4</sup>, Т.Б. Кутасова<sup>4</sup>, Ю.Н. Коржаев<sup>4</sup>,  
Н.С. Башкетова<sup>5</sup>, О.Н. Бушманова<sup>5</sup>, А.В. Сталевская<sup>5</sup>, И.Г. Чхинджерия<sup>5</sup>, А.Б. Жебрун<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Правительство Российской Федерации, Москва

<sup>2</sup> ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Российская Федерация

<sup>3</sup> НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>4</sup> Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге, Российская Федерация

<sup>5</sup> Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу, Российская Федерация

## Молекулярно-генетическая характеристика шига-токсинпродуцирующих *Escherichia coli*, выделенных при вспышке пищевой инфекции в Санкт-Петербурге в 2013 году

70

Пищевые инфекции, вызываемые шига-токсинпродуцирующими штаммами *Escherichia coli* (STEC), регистрируются во многих странах мира и представляют серьезную проблему для общественного здравоохранения. Сведений об эпидемиологии, этиологической структуре STEC-инфекций и молекулярно-генетических особенностях STEC-патогенов в Российской Федерации крайне недостаточно. **Цель исследования:** изучить вспышку пищевой инфекции в форме геморрагического колита (ГК) с гемолитико-уремическим синдромом (ГУС), энтероколита и остро гастроэнтерита среди детей Санкт-Петербурга в 2013 г. **Методы:** в работе использованы эпидемиологические, микробиологические, молекулярно-генетические и биоинформационные методы анализа. **Результаты:** объектами исследования послужили образцы клинического материала, пробы молока и пищевых продуктов, а также штаммы STEC, выделенные во время вспышки пищевой инфекции. Установлено, что вспышка пищевой инфекции была вызвана потреблением сырого молока, обсемененного STEC, что подтверждено данными эпидемиологического анализа, выявлением в пробах молока ДНК STEC и выделением возбудителей из испражнений больных детей и из проб молока. Данные полногеномного секвенирования показали, что описываемая вспышка была вызвана двумя группами патогенов: *E. coli* O157:H7 и *E. coli* O101:H33. Штаммы первой группы относятся к ранее известному сиквенс-типу — ST24, второй группы — к ранее не описанному ST145, зарегистрированному нами в базе данных shigatox.net. В геномах штаммов обеих групп присутствуют нуклеотидные последовательности VT2-подобных профагов с интегрированными в них генами *stx2c* и нуклеотидные последовательности плазмид с генами энтерогемолизина, а также гены синтеза основного фактора адгезии ЕНЕС интимина: в группе *E. coli* O157:H7 — интимина гамма, а в группе *E. coli* O101:H33 — интимина йота 2, до настоящей работы обнаруженного только в группе энтеропатогенных эшерихий (ЕРЕС).

**Заключение:** пополнение знаний по эпидемиологии и биологии возбудителей STEC-инфекций позволит усовершенствовать диагностику, лечение и профилактику геморрагического колита.

**Ключевые слова:** энтерогеморрагические *Escherichia coli*, шига-токсинпродуцирующая *Escherichia coli*, гены шига-токсинов, ген интимина, серотипирование, мультилокусное сиквенс-типирование, полногеномное секвенирование. (Вестник РАМН. 2015; 1: 70–81)

### Обоснование

Пищевые инфекции, вызываемые шига-токсинпродуцирующими штаммами *Escherichia coli* (STEC), — актуальная проблема общественного здравоохранения многих стран мира, включая высокоразвитые: США, Канаду, страны Европейского союза, Японию и др. Начиная с 1990-х гг. заболевания, обусловленные STEC-штаммами, регистрируют и в Российской Федерации [1, 2]. STEC-штаммы часто вызывают обычную водянистую диарею, которая, как правило, заканчивается выздоровлением в течение нескольких дней, тяжелые формы болезни провоцируют обуславливают развивают способны развить геморрагическую диарею (геморрагический колит, ГК) и ассоциированный с ней гемолитико-уремический синдром (ГУС). Наибольшую опасность, особенно для детей младшего возраста и пожилых людей, представляет ГУС, при котором у больного развиваются острая почечная недостаточность, тромбоцитопения и гемолитическая анемия. Смертность среди пациентов с ГУС может достигать 10%

и более; у 10–50% пациентов, перенесших ГУС, в течение длительного периода имеют место осложнения в виде хронической почечной недостаточности, диабета, невралгических нарушений и других патологий [3, 4]. Эффективных методов лечения STEC-инфекций до настоящего времени не предложено; применение антибиотиков не рекомендуется, поскольку их использование повышает риск возникновения ГУС у детей и пожилых пациентов [5]. Лечение инфекции в основном симптоматическое и предполагает введение больному жидкостей и электролитов, гемодиализ [5]. Лицензированных вакцин против STEC-инфекций на сегодня нет. Неготовность современной медицины эффективно бороться с пищевой инфекцией, вызванной STEC-штаммами, наглядно проявилась во время крупной вспышки, обусловленной *E. coli* O104:H4, в 2011 г. в Германии и других странах, когда инфекцией было поражено более 4000 человек, из которых 54 умерли [6].

Группа STEC-штаммов эшерихий включает в себя энтерогеморрагические *E. coli* (ЕНЕС) и не-ЕНЕС эшерихии. Для группы ЕНЕС характерно наличие в их геномах

G.G. Onishchenko<sup>1</sup>, I.A. Dyatlov<sup>2</sup>, E.A. Svetoch<sup>2</sup>, N.V. Volozhantsev<sup>2</sup>, V.A. Bannov<sup>2</sup>, N.N. Kartsev<sup>2</sup>, V.N. Borzenkov<sup>2</sup>, N.K. Fursova<sup>2</sup>, I.G. Shemyakin<sup>2</sup>, A.G. Bogun<sup>2</sup>, A.A. Kislichkina<sup>2</sup>, A.V. Popova<sup>2</sup>, V.P. Myakinina<sup>2</sup>, M.G. Teimurazov<sup>2</sup>, O.V. Polosenko<sup>2</sup>, L.A. Kaftyreva<sup>3</sup>, M.A. Makarova<sup>3</sup>, Z.N. Matveeva<sup>3</sup>, T.A. Grechaninova<sup>4</sup>, N.S. Grigor'eva<sup>4</sup>, E.V. Kicha<sup>4</sup>, G.V. Zabalueva<sup>4</sup>, T.B. Kutasova<sup>4</sup>, Yu.N. Korzhaev<sup>4</sup>, N.S. Bashketova<sup>5</sup>, O.N. Bushmanova<sup>5</sup>, A.V. Stalevskaya<sup>5</sup>, I.G. Tchinjeria<sup>5</sup>, F.B. Zhebrun<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Government of the Russian Federation, Moscow

<sup>2</sup> State Research Centre for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation

<sup>3</sup> Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>4</sup> St. Petersburg Centre for Hygiene and Epidemiology, Russian Federation

<sup>5</sup> St. Petersburg Rospotrebnadzor Department, Russian Federation

## Molecular-genetic Characterization of Shiga-Toxin Producing *Escherichia Coli* Isolated During a Food-Borne Outbreak in St. Petersburg in 2013

*Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) food-borne infections are reported worldwide and represent a serious problem for public healthcare. In the Russian Federation there is little information on epidemiology and etiology of STEC-infections as well as on molecular-genetic peculiarities of STEC pathogens. Objective: Our aim was to describe a food-borne outbreak as hemorrhagic colitis (HC) along with hemolytic uremic syndrome (HUS), enterocolitis, and acute gastroenteritis in children in St.-Petersburg in 2013. Methods: Epidemiological, microbiological, molecular-genetic and bioinformatic methods were applied. Results: Objects to study were clinical specimens, milk and food samples, as well as STEC strains isolated during the outbreak. The outbreak of food-borne infection was found to be caused by STEC-contaminated raw milk as confirmed by epidemiological analysis, detection of STEC DNA and isolation of relevant pathogens in milk and sick children fecal specimens. The whole-genome sequencing revealed two groups of pathogens, E. coli O157:H7 and E. coli O101:H33 among collected strains. Group I strains were attributed to the previously known sequence type ST24, while group II strains belonged to the previously non-described sequence type ST145. In strain genomes of both groups there were identified nucleotide sequences of VT2-like prophage carrying stx2c gene, plasmid enterohemolysin gene, and gene of the STEC main adhesion factor intimin. Gene of intimin gamma was identified in E. coli O157:H7 strains and intimin iota 2 in E. coli O101:H33 strains. The latter previously was identified only in enteropathogenic E. coli (EPEC) strains. Conclusion: The additional knowledge of epidemiology and biology of STEC pathogens would assist clinicians and epidemiologists in diagnosing, treating and preventing hemorrhagic colitis.*

**Key words:** enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC), Shiga-toxin genes stx2 and stx1, intimin gene eae, serotyping, MultiLocus Sequence Typing (MLST), whole-genome sequencing.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 70–81)

71

определенного набора генов патогенности: *rfb*, *eae*, *stx1*, *stx2*, *ehx*, контролирующих соответственно, синтез специфических липополисахаридов, основного антигена адгезии — интимина, шига-токсинов 2- и/или 1-го типов, энтерогемолизина. В геномах не-ЕНЕС эшерихий отсутствуют гены синтеза интимина и энтерогемолизина, а также гены синтеза белков III типа секреции, отвечающих, наряду с интимином, за адгезию возбудителя на энтероцитах кишечника человека и животных. Классический представитель ЕНЕС-группы — *E. coli* серотипа O157:H7, наиболее опасный патоген, с которым связаны крупные вспышки пищевых инфекций, зарегистрированные в разное время во многих странах мира, включая США, Канаду, Японию, европейские государства. В эти эпидемиологические вспышки были вовлечены сотни и тысячи человек, во всех случаях среди больных ГУС имели место летальные исходы. Кроме серотипа *E. coli* O157:H7 спорадические и вспышечные случаи ГК могут вызывать *E. coli* других серогрупп, среди которых наиболее часто встречаются O26, O55, O103, O111, O121 и O145. *E. coli* этих серогрупп вызывают менее тяжелые формы болезни, нежели *E. coli* O157:H7, однако обусловленные ими ГК и ГУС также могут сопровождаться летальными исходами [7]. В последние годы эпидемиологическая значимость указанных выше серогрупп *E. coli* в возникновении пищевых инфекций постоянно возрастает. Тем не менее серотип *E. coli* O157:H7 остается ведущим возбудителем тяжелых форм ГК и ГУС и основной причиной летальных исходов, причем число тяжелых форм болезни и число госпитализаций больных

при *E. coli* O157:H7 инфекции увеличиваются. Эту тенденцию исследователи связывают с повышением вирулентности возбудителя, причины которого остаются неясными.

Группа не-ЕНЕС шига-токсинпродуцирующих штаммов включает высокопатогенный для человека эпидемиологический штамм *E. coli* O104:H4 и отдельные штаммы *E. coli* различных O-серогрупп, выделенные у людей при спорадических случаях ГК и ГУС. Биологические и генетические свойства таких штаммов изучены слабо и нуждаются в дальнейших исследованиях. Это же справедливо и в отношении шига-токсинпозитивных не-ЕНЕС штаммов, нередко выделяемых от здоровых животных, иногда от людей и из продуктов питания. Роль этих штаммов в этиологии STEC-инфекции у человека не ясна.

Основной естественный резервуар и источник STEC-штаммов — сельскохозяйственные животные: крупный рогатый скот, овцы, козы, свиньи, птица. В последние годы получены доказательства того, что второй источник *E. coli* O157:H7 для человека — это зеленые растения: укроп, салат, петрушка, редис и др., в тканях которых возбудитель не только сохраняется, но и размножается [8]. Этим в определенной мере и объясняют факт увеличения в последние годы числа вспышек ГК среди людей после употребления зеленых растений или их семян.

Заражение человека STEC-штаммами, включая *E. coli* O157:H7, происходит, в первую очередь, при употреблении контаминированных патогеном сырых или неправильно приготовленных мясных продуктов, сырого молока, растительных салатов, питьевой воды и др. Инфицирование

людей, особенно детей, возможно также при контакте непосредственно с больными ГУС и бактерионосителями, при общении с домашними животными, при посещении животноводческих ферм и т.д. Заражающая доза *E. coli* O157:H7 для человека невысокая и составляет в большинстве случаев менее 100 клеток [9]. Инкубационный период заболевания непродолжительный, в среднем 3–4 сут.

В последние годы для эпидемиологического анализа вспышечных случаев пищевых инфекций широко используют генетический анализ штаммов возбудителей. В частности, у них определяют гены патогенности, изучают типы генетических детерминант синтеза шига-токсинов, определяют сиквенс-типы или проводят полногеномное секвенирование ДНК возбудителя. Подобный генетический анализ STEC-штаммов позволяет судить о биологических особенностях возбудителя, о тяжести и течении вызванного им заболевания, об источнике инфекции и т.д. Сиквенс-типирование, кроме того, позволяет установить доминирующие типы циркулирующих в стране STEC-штаммов и сравнить их с сиквенс-типами, выявляемыми в других странах.

Настоящая работа посвящена анализу произошедшей в Санкт-Петербурге в 2013 г. вспышки пищевой инфекции, в частности некоторым вопросам эпидемиологии болезни, выделению и идентификации возбудителя, выявлению источника заболевания людей, изучению фено- и генотипических свойств STEC-штаммов, в том числе *E. coli* O157:H7, выделенных при вспышке.

## Методы

### Дизайн исследования

В работе проанализирована серия случаев инфекционных заболеваний с применением эпидемиологических, микробиологических, молекулярно-генетических и биоинформационных методов анализа.

### Критерии соответствия

В исследование были включены образцы клинического материала (кала) от госпитализированных в Санкт-Петербурге в мае-июле 2013 г. 48 детей и 14 взрослых с острыми кишечными инфекциями (ОКИ). Проведен молекулярно-генетический анализ на наличие STEC образцов клинического материала от 15 больных детей с симптомами ГК и ГУС, а также образцов сырого коровьего молока ( $n = 6$ ), проб пищевых продуктов и воды ( $n = 213$ ), пробы испражнений от здоровых рабочих животноводческого хозяйства ( $n = 33$ ).

### Условия проведения

Исследование проведено в ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболensk, Московская обл., Российская Федерация), НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (Санкт-Петербург, Российская Федерация) и Центре гигиены и эпидемиологии (Санкт-Петербург, Российская Федерация).

### Продолжительность исследования

Исследование проводилось в период с мая 2013 по декабрь 2014 г.

### Исходы исследования

В ходе исследования выделены и идентифицированы STEC-штаммы типичного для возбудителя геморрагического колита серотипа O157:H7, а также серотипа O101:H33. Показано, что вспышка ОКИ была вызвана

потреблением сырого коровьего молока, контаминированного бактериями STEC. Исходом большинства случаев заболевания в анализируемой вспышке ОКИ явилось выздоровление, кроме одного, закончившегося смертью 2-летнего ребенка.

### Методы регистрации исходов

Клинические, бактериологические, молекулярно-биологические.

**Бактериальные изоляты и штаммы.** Изоляты STEC выделены во время вспышки ОКИ в сентябре 2013 г. ( $n = 6$ ). В Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk» депонированы штаммы *E. coli* O157:H7 13177 (Инв. № В-7440); *E. coli* O157:H7 13200 (В-7441); *E. coli* O157:H7 61-58 (В-7613); *E. coli* 13199-2 (В-7616); *E. coli* 85-50 (В-7614); *E. coli* 13573 (В-7615).

**Выделение и культивирование микроорганизмов** проводили согласно Методическим указаниям МУК 4.2.2963-11 «Методические указания по лабораторной диагностике заболеваний, вызываемых *E. coli*, продуцирующих шига-токсины (STEC-культуры) и обнаруженных возбудителей STEC-инфекций в пищевых продуктах». Бактериальные изоляты хранили в 10% глицерине при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$ .

**Видовую идентификацию микроорганизмов** проводили с помощью биохимических тест-систем API-20, автоматической системы VITEK-2 Compact (Biomérieux, Франция), а также на масс-спектрометре MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Германия).

**Выявление STEC в клиническом материале** осуществляли с помощью мультиплексной ПЦР тест-системы для детекции *E. coli* O157:H7 «Тест-система ТЭК-О157», регистрационное удостоверение № ФСР 2012/13709 (Оболensk, Россия), ПЦР тест-системы для детекции в реальном времени *E. coli* O157:H7 и *E. coli* O104:H4 STEC MULTI-FL, ТУ 9398-209-78095326-2013 (Россия), а также тест-систем «АмплиСенс ЕНЕС-FL» и «АмплиСенс Эшерихиозы-FL» («Интерлабсервис», Россия).

**Серотипирование.** Определение О-серогрупповой принадлежности штаммов STEC осуществляли с помощью реакции агглютинации на стекле с использованием следующих наборов: «Сыворотки диагностические, эшерихиозные ОК сухие для РА-ФСР 42-0010-4610-03», «Сыворотки диагностические, эшерихиозные ОК поливалентные сухие для РА-ФСР 42-0010-4611-03» (ОАО «Биомед» им. И.И. Мечникова, Россия), «Агглютинирующая моновалентная сыворотка O101» (ФКП «Армавирская биофабрика», Россия), «Диагностическая агглютинирующая сыворотка O101» (Statens Serum Institute, Дания), а также латексного антигенового диагностикума (ФБУН «ГНЦ ПМБ», Россия), в соответствии с рекомендациями производителей. Определение Н-серогрупповой принадлежности проводили в реакции иммобилизации с сывороткой Н7 (ОАО «Биомед» им. И.И. Мечникова, Россия), а также с помощью ПЦР со специфичными праймерами на ген *fliC* и анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов ПЦР-продуктов [10].

**Чувствительность к бактериофагу V32**, специфичному к *E. coli* серогруппы O157, определяли методом спот-теста [11].

**Чувствительность к антимикробным препаратам** определяли диско-диффузионным методом, а также с помощью бактериологического анализатора VITEK-2 Compact (Biomérieux, Франция). Интерпретацию результатов осуществляли согласно критериям EUCAST ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)).

**Иммунохроматографическая детекция шига-токсинов.** Определение шига-токсинов и липополисахаридов *E. coli*



серотипа O157:H7 в клиническом материале и в бактериальных культурах проводили с помощью иммунохроматографических тестов (ИХ-тестов) RIDA QUICK Verotoxin/O157 Combi (R-biopharm, Германия), Singlepath E. coli O157 (Merck, Германия), Duopath Verotoxins (Merck, Германия) в соответствии с рекомендациями производителя.

**Мультилокусное сиквенс-типирование (MLST)** проводили по схеме, представленной на веб-сайте базы данных EcMLST Version 1.2 (<http://www.shigatox.net/ecmlst/cgi-bin/index>), которая основана на анализе комбинаций 15 генов «домашнего хозяйства» (housekeeping genes): *aspC* — аспаратаминотрансферазы; *clpX* — АТФ-зависимой протеазы Clp; *fadD* — cys-CoA синтаза; *icdA* — изоцитратдегидрогеназы; *lysP* — лизинспецифичной пермеазы; *mdh* — малатдегидрогеназы; *uidA* — β-D-глюкуронидазы; *arcA* — регуляторного белка аэробного дыхания ArcA; *aroE* — дегидрошикиматредуктазы; *суаА* — аденилатциклазы; *dnaG* — ДНК-праймазы; *grpE* — белка термического шока GrpE; *mtlD* — маннитол-1-фосфат дегидрогеназы; *mutS* — белка метилнаправленной репарации MutS; *rpoS* — сигма-фактора RpoS РНК-полимеразы. Последовательности ДНК генов штамма *E. coli* O157:H7 61-58, депонированные в базе данных GenBank: *grpE* (KJ667569); *mutS* (KJ667570); *uidA* (KJ667571); *arcA* (KJ667572); *aroE* (KJ667573); *aspC* (KJ667574); *clpX* (KJ667575); *суаА* (KJ667576); *dnaG* (KJ667577); *mtlD* (KJ667578); *pgi* (KJ667579); *rpoS* (KJ667580); *cstA* (KJ667581); *fadD* (KJ667582); *icd* (KJ667583); *lysP* (KJ667584); *mdh* (KJ667585).

**Полногеномное секвенирование** осуществляли в системе Ion Torrent PGM (Life Technologies, США) согласно инструкциям фирмы-производителя (<http://ioncommunity.lifetechnologies.com>). Для секвенирования использовали наборы реактивов Ion PGM Reagents 200 Kit, Ion 314 Chip Kit и Ion 318 Chip Kit (Life Technologies, США). Индивидуальные прочтения собирали в контиги с помощью программы Newbler 2.9 (Roche, Швейцария).

**Биоинформационный анализ** выполняли с помощью программ Lasergene 11 (DNASTAR, США), Vector NTI Advance 11.5 (Invitrogen, США), Chromas Version 1.5 (Technelysium Ply Ltd, Австралия), BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

**Этическая экспертиза**

Материалы, использованные в работе, не содержат персональных данных пациентов, т.к. полученные от них клинические изоляты промаркированы без указания фамилии, даты рождения, адреса проживания, номера истории болезни и личных документов и других именных

материалов. В то же время в соответствии с требованиями биоэтического комитета Российской Федерации каждым пациентом (или его представителем) при поступлении в клинику был заключен договор с лечебным учреждением, содержащий согласие на проведение лечения и лабораторного обследования, в т.ч. на углубленное обследование с использованием инструментальных методов.

**Статистический анализ**

В ходе работы проведена оценка динамики случаев заболеваний ГК по дням в период вспышки ОКИ, возрастного состава больных, зарегистрированных во время вспышки, соотношения дат приобретения молока и развития заболевания. Для обработки результатов использовали ресурсы программы Microsoft Office Excel 2010 (США).

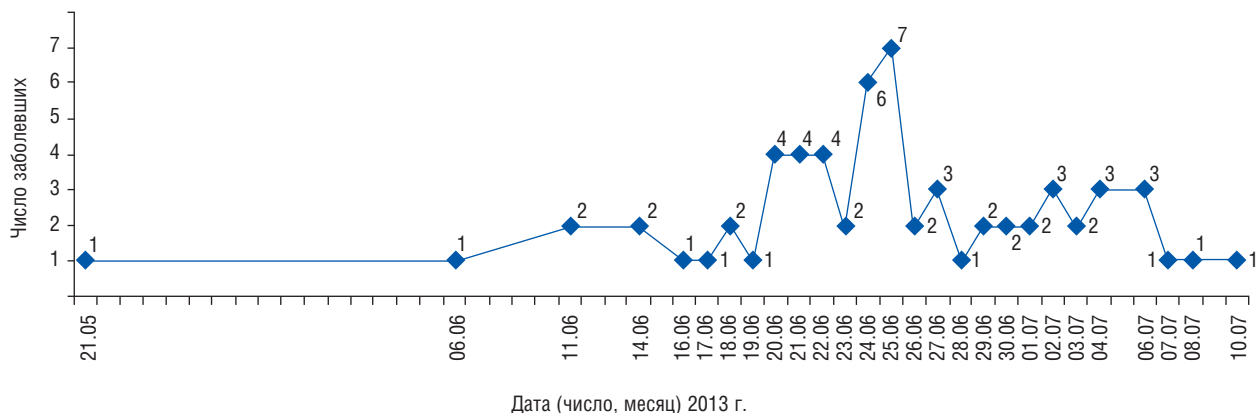
**Результаты**

**Участники исследования**

По данным Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по г. Санкт-Петербургу в период с 21.05.2013 по 12.07.2013 г. в городе было зарегистрировано более 5000 случаев ОКИ, 64 из них сопровождалось явлениями ГК, 6 — осложнились ГУС. Из 64 заболевших 62 человека, в т.ч. 48 детей и 14 взрослых, были госпитализированы, 1 ребенок умер. В возрастной структуре больных 65,6% составляли дети до 6 лет, максимальный удельный вес представлен детьми возрастной группы 1–2 года (табл. 1). Пик числа заболевших ГК пришелся на период с 19.06.2013 по 06.07.2013 г. (рис. 1).

**Таблица 1.** Возрастная характеристика больных, выявленных во время вспышки острой кишечной инфекции в Санкт-Петербурге в 2013 г.

| Возраст, лет | Абсолютное число | %    |
|--------------|------------------|------|
| <1           | 10               | 15,6 |
| 1–2          | 20               | 31,3 |
| 3–6          | 12               | 18,8 |
| 7–10         | 3                | 4,7  |
| 11–14        | 3                | 4,7  |
| 15–19        | 2                | 3,1  |
| 20–29        | 5                | 7,8  |
| 30–39        | 4                | 6,3  |
| >40          | 5                | 7,8  |
| Всего        | 64               | 100  |



**Рис. 1.** Динамика случаев заболеваний геморрагическим колитом по дням в период вспышки острой кишечной инфекции в Санкт-Петербурге в 2013 г.

Диагнозы ГК и ГУС были установлены на основании клинических проявлений болезни и в 16 случаях подтверждены результатами лабораторных исследований. ГК у больных начинался с повышения температуры тела, появления слабости, рвоты и в большинстве случаев с водянистой диареей, которая в последующем переходила в геморрагическую. ГУС у больных появлялся на 4–5-е сут от начала болезни и сопровождался субфебрильной температурой тела, анемией и почечной недостаточностью (повышенное содержание креатинина и мочевины в сыворотке крови, стойкая анурия). Все случаи ГК и ГУС протекали в среднетяжелой и тяжелой форме.

Основным фактором передачи людям возбудителей STEC-инфекции, обусловивших вспышку ГК в г. Санкт-Петербурге, с большой вероятностью было сырое молоко, реализованное населению через молокоавтоматы. Эта связь явно прослежена в 10 случаях при сравнении даты приобретения семьей молока и даты манифестации заболевания у детей, употреблявших это молоко (табл. 2). Судя по представленным данным, инкубационный период заболевания составлял 1–4 сут. Доказательством роли сырого молока в возникновении пищевой инфекции было также обнаружение в образцах молока ДНК *E. coli* O157:H7, выделение из них культуры *E. coli* с генами синтеза шига-токсина 2-го типа (см. ниже) и, наконец, тот факт, что прекращение реализации сырого молока из автоматов позволило быстро остановить вспышку пищевой инфекции.

74

Таблица 2. Сведения о датах приобретения молока и развитии заболевания

| № п/п | Больной | Дата приобретения молока, июнь 2013 г. | Дата манифестации заболевания, июнь 2013 г. |
|-------|---------|--|---|
| 1     | К.В.    | 04, 05                                 | 06  |
| 2     | Ш.Д.    | 07, 10                                 | 11  |
| 3     | П.Д.    | 15                                     | 17  |
| 4     | Г.К.    | 19                                     | 21  |
| 5     | Р.В.    | 19                                     | 22  |
| 6     | Б.А.    | 21                                     | 21  |
| 7     | Ш.Е.    | 17                                     | 18  |
| 8     | К.В.    | 19                                     | 20  |
| 9     | М.Л.    | 19                                     | 20  |
| 10    | М.В.    | 20                                     | 25  |

Бактериологическому и молекулярно-генетическому анализу на наличие STEC-штаммов и их специфических ДНК были подвергнуты испражнения 15 больных детей с симптомами ГК и ГУС; 5 образцов сырого коровьего молока, взятого из молокоавтоматов по 5 различным адресам Санкт-Петербурга и г. Красное село; 1 образец, отобранный из молочного танкера завода-производителя; 213 проб пищевых продуктов и воды из детских учреждений; 33 пробы испражнений от здоровых рабочих животноводческого хозяйства, из которого молоко поступало в молокоавтоматы.

#### Основные результаты исследования

Результаты исследований образцов испражнений и патологического материала от детей с предварительными диагнозами «Энтероколит», «ГК» и «ГУС», представленные в табл. 3, показывают, что STEC были выделены у 4 из 15 обследованных. В 2 случаях — из испражнений ребенка П.Д. с диагнозом «ГК и ГУС» и больного Б.А. с диагнозом «Острый гастроэнтерит» — были выделены

ЕНЕС-культуры серотипа O157:H7, которые имели типичные для этого возбудителя свойства: характерный рост на сорбитол-агаре, хромогенной среде и среде Эндо. Они были чувствительны к специфическому бактериофагу V32, давали выраженную агглютинацию со специфическими латексным и сывороточным диагностикумами и положительную реакцию в ИХ-тесте, что подтверждает принадлежность данных изолятов к серогруппе O157. Клетки обеих культур подвижные, результаты реакции иммобилизации бактерий со специфической H7-сывороткой свидетельствуют о наличии у них жугитового антигена H7. С помощью IX-теста Duorath Verotoxins показано, что оба изолята продуцируют шига-токсин 2. Изолят от больного П.Д. депонирован в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболensk» как штамм *E. coli* O157:H7 13177 под номером В-7440, а 2 культуры, выделенные от больного Б.А. независимо двумя группами исследователей, — как штаммы *E. coli* O157:H7 13200 и *E. coli* O157:H7 61-58 под номерами В-7441 и В-7613, соответственно.

Анализ штаммов *E. coli* O157:H7 от обоих пациентов (П.Д. и Б.А.) с помощью ПЦР в режиме реального времени показал, что в составе их геномов присутствуют гены основных факторов патогенности STEC: *rfb*<sub>O157</sub>, *stx2*, *eae*, *ehx* и *fliC*<sub>H7</sub>. Следует отметить, что у обоих пациентов возбудители были высеяны из испражнений в низкой концентрации. От больного П.Д. при исследовании более 50 колоний энтеробактерий была изолирована 1 колония патогена. У больного Б.А. только 3 колонии из 77 исследованных принадлежали *E. coli* O157:H7. Столь низкий показатель высева патогена из испражнений больных можно объяснить либо предшествующим взятию проб применением эффективных против данного патогена антимикробных препаратов, либо определенной цикличностью его выделения с каловыми массами.

У больного П.Д., помимо выделения из испражнений культуры *E. coli* O157:H7, в сыворотке крови с помощью ИХ-теста было обнаружено присутствие шига-токсина и специфического O157 антигена; методом ПЦР в режиме реального времени в том же образце сыворотки и испражнениях были детектированы гены *stx2*, *rfb*<sub>O157</sub> и *eae*. Эти же гены обнаружили в испражнениях больного Б.А. Таким образом, лабораторные исследования свидетельствуют, что пищевая инфекция у П.Д. и Б.А. была обусловлена ЕНЕС-штаммами серотипа O157:H7.

В двух других случаях (больные Ш.Л. и П.А., см. табл. 3) в каловых массах и в выделенных культурах также обнаружен ген *stx2*, однако гены *rfb*<sub>O157</sub> и *fliC*<sub>H7</sub>, определяющие серотип O157:H7, не выявлены. Эти 2 культуры имели типичные для *E. coli* свойства, но в отличие от *E. coli* O157:H7 имели фермент глюкуронидазу и были устойчивы к O157-специфическому бактериофагу V32. Следует отметить, что специфичность бактериофага V32 составляет 95% (проверено на 230 штаммах *E. coli* разных серогрупп, выделенных в разных регионах России). По данным ИХ-теста, обе культуры продуцировали шига-токсин. Установлена принадлежность STEC-культур, изолированных от больных Ш.Л. и П.А., к серогруппе O101. STEC-культура в испражнениях Ш.Л. присутствовала в значительной концентрации: из 77 исследованных колоний, типичных для *E. coli*, 48 содержали ген *stx2*. Два STEC-штамма *E. coli* 13199-2 и *E. coli* 85-50, выделенные от Ш.Л. независимо двумя группами исследователей, депонированы в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболensk» под номерами В-7616 и В-7614.

Выделенные STEC-штаммы были чувствительны ко всем использованным антимикробным препаратам:

Таблица 3. Результаты бактериологического и молекулярно-генетического анализа образцов фекалий на наличие в них STEC-культур и их специфических ДНК

| № п/п | Пациент (возраст) | Предварительный диагноз | Вид анализируемого материала | ИХ  | Детекция генов методом ПЦР в режиме реального времени |             |                            |                           |            |             | Выделенная STEC культура |
|-------|-------------------|-------------------------|------------------------------|-----|---|-------------|----------------------------|---------------------------|------------|-------------|--------------------------|
|       |                   |                         |                              |     | <i>stx2</i>   | <i>stx1</i> | <i>rfb</i> <sub>O157</sub> | <i>fliC</i> <sub>H7</sub> | <i>eae</i> | <i>ehly</i> |                          |
| 1     | П.Д. (5 лет)      | ГК, ГУС                 | Кал                          | +   | +   | -           | +                          | +                         | +          | +           | -                        |
|       |                   |                         | Сыворотка                    | +   | +   | -           | +                          | +                         | +          | +           | -                        |
|       |                   |                         | Среда обогащения (кал)       | н/и | +   | -           | +                          | +                         | +          | +           | <i>E. coli</i> O157      |
| 2     | Ш.Д. (1,5 года)   | ГК                      | Кал                          | +   | +   | -           | +                          | н/и                       | +          | н/и         | -                        |
|       |                   |                         | Сыворотка                    | +   | +   | -           | +                          | н/и                       | +          | н/и         | -                        |
|       |                   |                         | Среда обогащения (кал)       | н/и | -   | -           | +                          | н/и                       | -          | н/и         | -                        |
| 3     | Б.Л. (1 год)      | Энтероколит             | Кал                          | н/и | -   | -           | -                          | н/и                       | -          | н/и         | -                        |
|       |                   |                         | Сыворотка                    | +   | -   | -           | -                          | н/и                       | -          | н/и         | -                        |
|       |                   |                         | Среда обогащения (кал)       | н/и | -   | -           | -                          | н/и                       | -          | н/и         | -                        |
| 4     | К.Л. (3 года)     | Энтероколит             | Кал                          | н/и | -   | -           | -                          | н/и                       | -          | н/и         | -                        |
|       |                   |                         | Сыворотка                    | +   | -   | -           | -                          | н/и                       | -          | н/и         | -                        |
|       |                   |                         | Среда обогащения (кал)       | н/и | -   | -           | -                          | н/и                       | -          | н/и         | -                        |
| 5     | А.М. (15 лет)     | Энтерит, ГУС            | Кал                          | н/и | -   | -           | -                          | н/и                       | +          | н/и         | -                        |
|       |                   |                         | Сыворотка                    | +   | -   | -           | -                          | н/и                       | -          | н/и         | -                        |
|       |                   |                         | Среда обогащения (кал)       | н/и | -   | -           | -                          | н/и                       | +          | н/и         | -                        |
| 6     | П.П. (1 год)      | Энтерит                 | Кал                          | н/и | -   | -           | -                          | н/и                       | -          | н/и         | -                        |
|       |                   |                         | Сыворотка                    | +   | -   | -           | -                          | н/и                       | -          | н/и         | -                        |
|       |                   |                         | Среда обогащения (кал)       | н/и | +   | -           | -                          | н/и                       | +          | н/и         | -                        |
| 7     | Ш.Л. (5 лет)      | ГК                      | Кал                          | -   | +   | -           | -                          | н/и                       | +          | н/и         | <i>E. coli</i> O101      |
| 8     | Б.А. (1 год)      | Острый гастроэнтерит    | Среда обогащения (кал)       | +   | +   | -           | +                          | +                         | +          | н/и         | <i>E. coli</i> O157      |
| 9     | П.А. (15 лет)     | ГК, ГУС                 | Среда обогащения (кал)       | н/и | +   | -           | -                          | -                         | +          | н/и         | <i>E. coli</i> O101      |
| 10    | К.В. (2 года)     | ГК?, ГУС? (умер)        | Формализированные органы     | н/и | -   | -           | -                          | -                         | -          | -           | -                        |
| 11    | Г.К. (5 лет)      | ГК                      | Кал                          | н/и | +   | -           | н/и                        | н/и                       | +          | н/и         | -                        |
| 12    | Р.В. (5 лет)      | ГК                      | Кал                          | н/и | +   | -           | н/и                        | н/и                       | +          | н/и         | -                        |
| 13    | К.В. (3 года)     | ГК                      | Кал                          | н/и | +   | -           | н/и                        | н/и                       | +          | н/и         | -                        |
| 14    | М.Л. (6 лет)      | ГК                      | Кал                          | н/и | +   | -           | н/и                        | н/и                       | +          | н/и         | -                        |
| 15    | М.В. (4 года)     | ГК                      | Кал                          | н/и | +   | -           | н/и                        | н/и                       | +          | н/и         | -                        |

Примечание. ГК — геморрагический колит; ГУС — гемолитико-уремический синдром; ИХ — иммунохроматографический тест на *Stx* и *O157*; «+» — положительный результат ПЦР: наличие специфической ДНК с соответствующим геном; «-» — отрицательный результат; «н/и» — не исследовано.

β-лактамам, включая цефалоспорины и карбапенемы, хинолонам, аминогликозидам, нитрофуранам, тетрациклинам, хлорамфениколу, ко-тримоксазолу, фосфомицину и колистину.

У 11 из 15 обследованных детей STEC-культуры из образцов испражнений выделены не были. Тем не менее у 7 из 11 больных в кале были обнаружены гены шига-токсинов и интимина (см. табл. 3). Обращает на себя внимание факт выявления с помощью ИХ-теста в сыворотках крови 6 больных детей шига-токсинов и специфического O157-антигена, причем ИХ-тест был положителен у 3 больных детей, у которых специфические ДНК *E. coli* O157:H7 в испражнениях обнаружены не были.

При бактериологическом и ПЦР-анализе испражнений от 33 рабочих животноводческого хозяйства, откуда поступало сырое молоко в торговую сеть для реализации через молокоавтоматы, ни в одной из исследованных проб STEC-культуры или их ДНК обнаружены не были. Безуспешными оказались и попытки выделить STEC-

культуры или их ДНК при исследовании 213 образцов пищевых продуктов и воды из детских учреждений, где были зарегистрированы случаи ОКИ.

При исследовании 5 образцов сырого коровьего молока, взятого из разных молокоавтоматов, во всех случаях обнаружены микроорганизмы группы кишечной палочки в концентрации не менее 10<sup>3</sup> КОЕ/мл. В среде обогащения после посева молока в 4 из 5 образцов ПЦР в режиме реального времени идентифицирована ДНК ЕНЕС-штаммов. При дополнительном ПЦР-исследовании с праймерами на отдельные гены вирулентности в одном из образцов выявлена ДНК с генами *stx2*, *rfb*<sub>O157</sub> и *eae*, характерными для *E. coli* O157:H7 (подтверждено в трех независимых экспериментах). Обнаружение одновременно трех основных маркеров ЕНЕС O157:H7 предполагает присутствие этого патогена в образце молока. Однако выделить чистую культуру *E. coli* O157:H7 в этом случае не удалось. Очевидно, это связано с тем, что доля бактериальных клеток с искомыми генами в сме-

Таблица 4. Характеристика STEC-штаммов, выделенных во время вспышки острой кишечной инфекции в 2013 г.

| Штамм (№ в коллекции «ГКПМ-Оболensk») | 13177 (В-7440)    | 13200 (В-7441)    | 61-58 (В-7613)    | 13199-2 (В-7616)  | 85-50 (В-7614)    | 13573 (В-7615)    |
|---------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Серотип                               | O157:H7           | O157:H7           | O157:H7           | O101:H33*         | O101:H33*         | O101:H33*         |
| Источник выделения                    | Фекалии (П.Д.)    | Фекалии (Б.А.)    | Фекалии (Б.А.)    | Фекалии (Ш.Л.)    | Фекалии (Ш.Л.)    | Молоко            |
| Биохимическая активность              | dSor              | –                 | –                 | –                 | –                 | –                 |
|                                       | BGUR              | –                 | –                 | –                 | +                 | +                 |
|                                       | SAC               | +                 | +                 | +                 | –                 | –                 |
|                                       | ODC               | +                 | +                 | +                 | –                 | –                 |
|                                       | LDC               | +                 | +                 | +                 | –                 | –                 |
|                                       | O/129R            | –                 | –                 | –                 | +                 | +                 |
|                                       | IMLTa             | –                 | –                 | –                 | –                 | –                 |
| Алельный профиль MLST                 | ILATa             | –                 | –                 | –                 | –                 | –                 |
|                                       | arcA              | 6                 | 6                 | 6                 | 3                 | 3                 |
|                                       | aroE              | 7                 | 7                 | 7                 | 1                 | 1                 |
|                                       | aspC              | 1                 | 1                 | 1                 | 3                 | 3                 |
|                                       | clpX              | 1                 | 1                 | 1                 | 3                 | 3                 |
|                                       | cyuA              | 1                 | 1                 | 1                 | 2                 | 2                 |
|                                       | dnaG              | 1                 | 1                 | 1                 | 2                 | 2                 |
|                                       | fadD              | 4                 | 4                 | 4                 | 1                 | 1                 |
|                                       | grpE              | 1                 | 1                 | 1                 | 2                 | 2                 |
|                                       | icdA              | 3                 | 3                 | 3                 | 15                | 15                |
|                                       | lysP              | 2                 | 2                 | 2                 | 1                 | 1                 |
|                                       | mdh               | 4                 | 4                 | 4                 | 1                 | 1                 |
|                                       | mtlD              | 11                | 11                | 11                | 2                 | 2                 |
|                                       | mutS              | 11                | 11                | 11                | 1                 | 1                 |
|                                       | rpoS              | 8                 | 8                 | 8                 | 1                 | 1                 |
| uidA                                  | 4                 | 4                 | 4                 | 1                 | 1                 |                   |
| ST                                    | 24                | 24                | 24                | 145               | 145               | 145               |
| ST-комплекс                           | 11                | 11                | 11                | 23                | 23                | 23                |
| Ген <i>stx</i>                        | stx <sub>2c</sub> | stx <sub>2c</sub> | stx <sub>2c</sub> | stx <sub>2c</sub> | stx <sub>2c</sub> | stx <sub>2c</sub> |
| Ген <i>ehx</i>                        | +                 | +                 | +                 | +                 | +                 | +                 |
| Ген <i>eae</i>                        | eae <sub>γ</sub>  | eae <sub>γ</sub>  | eae <sub>γ</sub>  | eae <sub>γ</sub>  | eae <sub>γ</sub>  | eae <sub>γ</sub>  |
| Ген <i>rfb</i> <sub>O157</sub>        | +                 | +                 | +                 | –                 | –                 | –                 |
| Ген <i>fliC</i> <sub>H7</sub>         | +                 | +                 | +                 | –                 | –                 | –                 |

Примечание. \* – H33 определен на основании полногеномного секвенирования; «+» – наличие признака; «-» – отсутствие признака; dSor – ферментация сорбитола; BGUR – β-глюкуронидазная активность; SAC – ферментация сахарозы; ODC – орнитиндекарбоксилазная активность; LDC – лизиндекарбоксилазная активность; O/129R – устойчивость к вибриостатическому агенту 2,4-диамино-6,7-диизопропилптеридину; IMLTa – ферментация L-малата; ILATa – ферментация L-лактата; *aspC* – ген аспартаминотрансферазы; *clpX* – ген АТФ-зависимой протеазы Clp; *fadD* – ген *cyI*-CoA синтетазы; *icdA* – ген изоцитратдегидрогеназы; *lysP* – ген лизинспецифичной пермеазы; *mdh* – ген малатдегидрогеназы; *uidA* – ген β-D-глюкуронидазы; *arcA* – ген регуляторного белка аэробного дыхания ArcA; *aroE* – ген дегидрошикиматредуктазы; *cyuA* – ген аденилатциклазы; *dnaG* – ген ДНК-праймазы; *grpE* – ген белка термического шока GrpE; *mtlD* – ген маннитол-1-фосфат дегидрогеназы; *mutS* – ген белка метилнаправленной репарации MutS; *rpoS* – ген сигма-фактора RpoS РНК-полимеразы.

си с другими энтеробактериями, выросшими в среде обогащения, не превышает значения 1:50 000 (установлено при титровании ДНК-матрицы анализируемых бактерий и референс-бактерий в количественной ПЦР). Следует отметить, что инфицирующая доза *E. coli* O157:H7 очень низка и колеблется в интервале от 4 до 100 клеток [9]. Культура STEC-штамма серогруппы O101 была выделена при бактериологическом исследовании молока, отобранного непосредственно из емкостей завода-производителя (штамм *E. coli* 13573, № В-7615 в коллекции «ГКПМ-Оболensk»). По данным бактериологического и ПЦР-анализа, этот штамм не отличался от штаммов *E. coli* 85-50 и *E. coli* 13199-2, выделенных от больного ребенка Ш.Л. (табл. 4).

**Дополнительные результаты исследования**

Как показали результаты бактериологического анализа, дополненного данными ПЦР-исследования, все STEC-штаммы, выделенные от больных детей при

вспышке пищевой инфекции, распределились на 2 группы: *E. coli* серотипа O157:H7 и *E. coli* серогруппы O101. Для дальнейшей характеристики и сравнительного анализа выделенных STEC-штаммов были использованы методы полногеномного секвенирования и мультилокусного секвенс-типирования (MLST).

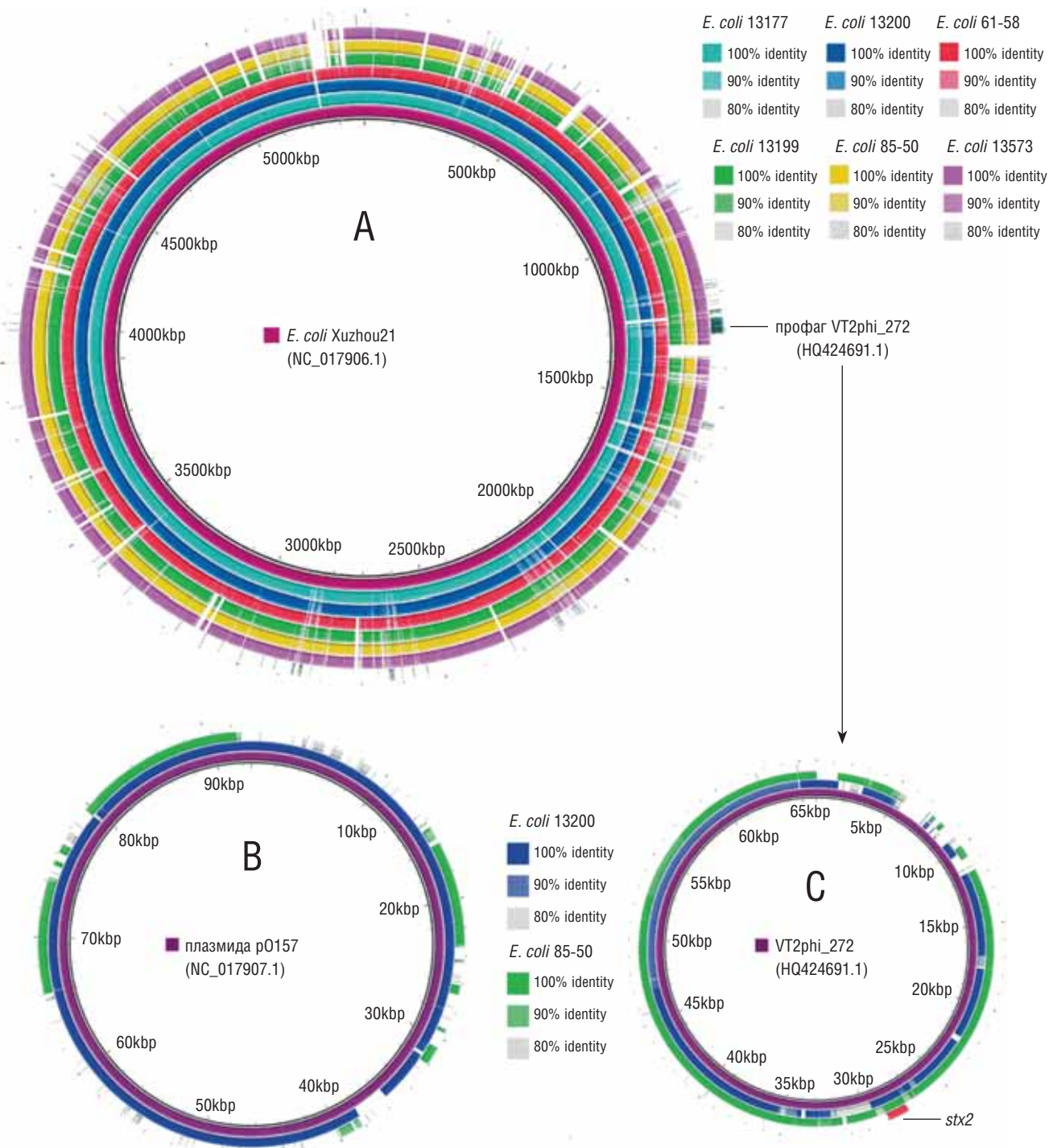
В результате трех независимых раундов секвенирования в системе Ion Torrent PFG для каждого из 6 штаммов было получено от 1,1 до 2,8 млн коротких нуклеотидных фрагментов (ридов). Обработка и анализ ридов с помощью программы Lasergene 11 с последующей сборкой нуклеотидных последовательностей в контиги (Newbler 2.9) позволили провести сравнительный анализ секвенированных геномов. Для этого среди штаммов EHEC, геномы которых размещены в базе данных GenBank, был выбран наиболее близкий гомолог с наименее выраженным однонуклеотидным полиморфизмом (SNP) – штамм *E. coli* Xuzhou21 (NC\_017906.1) серотипа O157:H7. Нуклеотидные последовательности генома это-

го штамма были использованы в качестве референс-последовательностей при сборке и анализе геномов исследуемых нами штаммов (рис. 2).

Проведенный анализ показал практически полную идентичность геномов штаммов *E. coli* O157:H7 61-58, 13177 и 13200, выделенных от больных Б.А. и П.Д. Геномы трех штаммов серогруппы O101, выделенные от ребенка (*E. coli* 85-50 и *E. coli* 13199-2) и из молока (*E. coli* 13573),

отличаются от трех штаммов *E. coli* O157:H7, но идентичны друг другу (см. рис. 2).

В контигах, полученных при секвенировании STEC-штаммов (алгоритм *de novo*), выявлены все 15 участков генома, используемых для мультилокусного типирования высокопатогенных *E. coli* по схеме вебсайта shigatox.net. На основании анализа полученных контигов и исследования MLST-локусов можно заключить, что штаммы



**Рис. 2.** Сравнительный анализ геномов выделенных ЕНЕС штаммов O157:H7 и O101:H33.  
 Примечание. А — сборка контигов анализируемых геномов на референс-последовательности хромосомы штамма *E. coli* Xuzhou21 (NC\_017906.1). Соответствие окружностей (от внутренней к наружной): *E. coli* Xuzhou21, три штамма *E. coli* O157:H7 (13177, 13200 и 61-58, соответственно), три штамма *E. coli* O101:H33 (13199-2, 85-50 и 13573, соответственно); В — сравнение нуклеотидных последовательностей в составе рO157-подобных плазмид штаммов *E. coli* 13200 (серотип O157:H7) и *E. coli* 85-50 (серогруппа O101); С — сравнение нуклеотидных последовательностей профагов этих же штаммов. Изображения построены с использованием программы Blast Ring Image Generator (<http://sourceforge.net/projects/brig>).

*E. coli* O157:H7 13177, 13200 и 61-58 принадлежат к сиквенс-типу ST24 (ST комплекс 11) с MLST-профилем, который был обнаружен в базе данных патогенных *E. coli* только у одного штамма — ЕНЕС TW05359 (PF-15, 413) — неизвестного происхождения из коллекции Центра NIAID STEC (<http://www.shigatox.net/ecmlst/cgi-bin/strainquery?strainname=TW05359&scheme=st15>). Штаммы второй группы *E. coli* 85-50 и *E. coli* 13199-2, выделенные от больного ребенка Ш.Л., и *E. coli* 13573, выделенный из молока, также идентичны между собой, но по результатам MLST отличаются от штаммов первой группы. Профиль MLST этих штаммов уникален: на основании нашей заявки в базе данных shigatox.net ему присвоен номер ST145 (ST-комплекс 23) (<http://shigatox.net/ecmlst/cgi-bin/stquery?st=145&search=15&scheme=st15>; см. табл. 4).

При анализе нуклеотидных последовательностей генов основных факторов патогенности STEC-штаммов установлено следующее. Во всех 6 штаммах обнаружены полные нуклеотидные последовательности гена *stx2<sub>c</sub>*, причем нуклеотидные последовательности *stx2<sub>c</sub>* генов во всех исследованных штаммах полностью идентичны. Ген *stx2<sub>c</sub>*, детерминирующий синтез шига-токсина типа 2С, выявляют в штаммах *E. coli* O157:H7, вызывающих средние и тяжелые формы ГК и ГУС [12]. Следует отметить, что установленные гены шига-токсинов локализируются на VT2-подобных профагах, нуклеотидные последовательности которых полностью идентичны, но только в пределах каждой группы штаммов. То же самое можно сказать о нуклеотидных последовательностях рO157-подобных плазмид, идентичных в пределах каждой группы исследованных штаммов и отличающихся у O157:H7 и O101 штаммов (см. рис. 2). В составе плазмид выявлены кластеры генов, ответственных за синтез энтерогемолизина (*ehxA*) и транспортных Hly-белков.

В штаммах ЕНЕС O157:H7 выявлены последовательности гена *eae<sub>γ</sub>*, детерминирующего синтез белка интимина гамма, в штаммах серогруппы O101 — аналогичный ген *eae<sub>ε</sub>*, детерминирующий синтез интимина другого типа — йота 2. Первый характерен для штаммов ЕНЕС, тогда как ген интимина йота 2 не ассоциирован со STEC-штаммами и до сих пор был обнаружен только в энтеропатогенных штаммах *E. coli* (ЕРЕС), т.е. штаммах, не продуцирующих шига-токсины [13–15].

В геномах штаммов серогруппы O101 (*E. coli* 13573, *E. coli* 13199-2 и *E. coli* 85-50) обнаружены нуклеотидные последовательности, идентичные последовательностям гена *fliC*, детерминирующего синтез флагеллина H33-серотипа (GenBank: AF345849.1; AY250015.1), а также нуклеотидные последовательности, гомологичные последовательностям гена *wzm* *E. coli* серотипа O101 (полная идентичность по транслируемому продукту с последовательностью GenBank: GQ499340.1). Других аналогов по кластеру генов О-антигенов, кроме гена *wzm*, в базах данных не обнаружено. Полученные результаты позволяют предположить принадлежность штаммов серогруппы O101 к серотипу O101:H33.

### Обсуждение

Прошло уже более 30 лет с момента, когда впервые в США была зарегистрирована пищевая инфекция (геморрагический колит), вызванная шига-токсинпродуцирующим штаммом *E. coli* O157:H7. В последующие годы инфекцию стали диагностировать во многих, в т.ч. высокоразвитых, странах мира. В короткие сроки было установлено, что природным резервуаром *E. coli*

O157:H7 и других ЕНЕС-патогенов служат домашние и сельскохозяйственные животные, в первую очередь крупный рогатый скот. Человек заражается STEC-штаммами чаще всего при употреблении контаминированных этими патогенами пищевых продуктов, в ряду которых важное место занимает сырое молоко. Следует отметить, что во многих странах имеется небольшая часть населения (к примеру, в США это 1–3% [16]), которая предпочитает употреблять сырое молоко, как естественный продукт, не подвергшийся никаким обработкам, приобретаемая ею на молочных фермах или в розничной торговле. К сожалению, сырое молоко, даже полученное на ферме с высоким уровнем санитарно-гигиенической культуры, может содержать STEC — возбудителей геморрагического колита. Например, по сообщению французских исследователей, из 205 образцов сырого молока, исследованных ими, 21% содержал STEC-штаммы, хотя и в небольшой концентрации [17]. STEC-культуры в образцах сырого молока обнаружены и исследователями их других стран, поэтому неудивительно, что употребление сырого молока, особенно детьми, нередко становится причиной спорадических и вспышечных случаев пищевой инфекции, вызванной STEC-патогенами.

В настоящей работе впервые в Российской Федерации описана вспышка пищевой инфекции, связанная с потреблением жителями Санкт-Петербурга сырого молока, контаминированного шига-токсинпродуцирующими *E. coli*, которое приобреталось населением из молочных автоматов, куда оно поступало непосредственно из молочного хозяйства. В нашем исследовании установлено, что этиологической причиной заболевания ГК детей явились 2 энтерогеморрагических штамма *E. coli*, один из которых принадлежал к серотипу *E. coli* O157:H7, второй — к серотипу *E. coli* O101:H33. И если обнаружение у больного ГК возбудителя *E. coli* O157:H7 и его специфических последовательностей ДНК в образцах сырого молока не является чем-то неожиданным, то факт выделения STEC-штамма серотипа *E. coli* O101:H33 у больного ребенка и в образце сырого молока является уникальным случаем для нашей страны. О выделении STEC-штамма серогруппы O101 от больных ГК сообщалось в работе О. Nyholm и соавт. [18]. *E. coli* этой серогруппы, как правило, относятся к группе энтеротоксигенных *E. coli* (ЕТЕС), которые вызывают колидиарею у новорожденных телят. Здесь же мы имеем дело с новым патотипом *E. coli*, опасным для человека.

Проведенные нами молекулярно-генетические исследования 2 типов штаммов, вызвавших вспышку ГК у детей, показали, что штаммы *E. coli* серотипа O157:H7 имеют одинаковые MLST-профили и относятся к сиквенс-типу ST24 (ST комплекс 11), впервые выявленному у штамма *E. coli* TW05359 неизвестного происхождения из коллекции Центра NIAID STEC (<http://www.shigatox.net/ecmlst/cgi-bin/strainquery?strainname=TW05359&scheme=st15>). Штаммы серотипа O101:H33 также имеют одинаковые MLST-профили и образуют новый (ранее отсутствующий в базе данных shigatox.net) сиквенс-тип ST145.

В геномах штаммов обеих групп обнаружены нуклеотидные последовательности VT2-подобных профагов с интегрированными в них генами синтеза шига-токсина 2с (*stx2<sub>c</sub>*), причем нуклеотидные последовательности этих генов во всех 6 исследованных штаммах полностью идентичны. Ген *stx2<sub>c</sub>* является одной из аллельных форм гена *stx2*. Известно, что STEC-штаммы, содержащие различные типы и аллельные варианты генов *stx*, заметно различаются по инфекционной способности и степени тяжести вызываемых ими заболеваний. Так, в работе Friedrich

и соавт. [12] показано, что из 268 STEC-штаммов, выделенных от больных и содержащих разные аллельные формы гена *stx2* (*stx2*, *stx2<sub>c</sub>*, *stx2<sub>d</sub>*, *stx2<sub>e</sub>* и *stx2<sub>f</sub>*), только штаммы с генотипом *stx2* и *stx2<sub>c</sub>* вызывали заболевания, сопровождавшиеся ГУС. Как следует из результатов этой же работы, риск развития ГУС после инфекции STEC с генотипом *stx2<sub>c</sub>* значительно ниже, чем после инфицирования STEC с генотипом *stx2* (3,7 и 54,9%, соответственно). Вместе с тем среди STEC-штаммов с геном *stx2<sub>c</sub>* доля способных вызвать инфекцию с ГУС составила 35,7% [12]. В нашем случае 2 из 4 STEC-штаммов, выделенных от больных детей, привели к развитию инфекции, отягощенной ГУС (больные П.Д. и П.А., см. табл. 3).

Помимо генов синтеза шигаподобных токсинов в исследованных штаммах обнаружены кластеры генов, ответственных за синтез энтерогемолизина (*ehxA*) и транспортных Нгу-белков и локализованных на рO157-подобных плаزمидах. В пределах каждой группы штаммов нуклеотидные последовательности плазмид были полностью идентичны, но отличались у штаммов серотипа O157:H7 и O101:H33. Во всех штаммах выявлены также гены синтеза основного фактора адгезии ЕНЕС — интимина. Однако, если в группе *E. coli* O157:H7 эти гены детерминируют синтез интимина гамма, то во второй (*E. coli* O101:H33) — интимина йота 2. До настоящей работы в доступной литературе отсутствовали сообщения о выделении от больных ГК STEC-штаммов, в которых бы одновременно детектировали гены шига-токсина 2с и интимина йота 2. Ранее гены интимина йота 2 обнаруживали только в группе энтеропатогенных штаммов *E. coli* (ЕРЕС), которые, как известно, не продуцируют шига-токсины [13–15].

Полученные данные свидетельствуют о большом генетическом разнообразии факторов патогенности у STEC-штаммов различных серогрупп и позволяют глубже понять и объяснить связь генотипа патогена с его потенциальной опасностью для человека и его клинической значимостью для инфекционистов.

Обнаружение у больных ГК STEC-штаммов новых серо- и генотипов указывает на необходимость проведения более углубленных исследований этиологической структуры ГК, обращая более пристальное внимание на другие, не-O157 STEC-серогруппы, циркулирующие на территории Российской Федерации. Безусловно, важным звеном в решении этой задачи являются также исследования по изучению бактерионосительства STEC-культур у сельскохозяйственных животных.

Предупреждение пищевой STEC-инфекции, связанной с потреблением сырого молока, представляется весьма сложной задачей для специалистов, поскольку, как мы уже упоминали выше, даже строгое соблюдение санитарно-гигиенических и ветеринарно-санитарных норм и

правил при получении сырого молока не гарантирует защиты от контаминации его STEC-патогенами. Учитывая это обстоятельство, FDA (Food and Drug Administration) еще в 1987 г. запретила продажу в США непастеризованных молочных продуктов [19]. На наш взгляд, до тех пор, пока в России не будет разработана технология, полностью гарантирующая получение производителем безопасного для человека сырого молока, реализовывать его населению через розничную продажу, в т.ч. и через молочные автоматы, весьма опасно для потребителя. Употребление пастеризованного молока во много раз снижает риск заболевания STEC-инфекцией.

### Заключение

Вспышка острой кишечной инфекции среди детей, зарегистрированная в Санкт-Петербурге в 2013 г. и протекавшая в форме геморрагического колита с проявлением в некоторых случаях гемолитико-уремического синдрома, энтероколита и острого гастроэнтерита, была вызвана потреблением сырого коровьего молока, контаминированного шига-токсинпродуцирующими эшерихиями. Об этом свидетельствуют эпидемиологический анализ вспышки, клиническая картина болезни, выявление в пробах молока ДНК основных генов патогенности ЕНЕС-культур и выделение из проб молока и испражнений больных детей энтерогеморрагических штаммов и их специфических фрагментов ДНК. Молекулярно-генетические исследования, включая полногеномное секвенирование выделенных STEC-штаммов, наряду с типичным возбудителем геморрагического колита *E. coli* O157:H7, позволили обнаружить бактерии штамма *E. coli* серотипа O101:H33 уникального сиквенс-типа и с новым сочетанием факторов вирулентности (генов шига-токсина 2с, интимина йота 2 и энтерогемолизина).

Полученные в работе результаты расширяют наши знания о биологии возбудителей геморрагического колита у людей и указывают на необходимость совершенствования диагностики этой болезни.

### Конфликт интересов

Исследование выполнено в рамках НИР 037 Отраслевой программы «Научные исследования и разработки с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия и снижения инфекционной заболеваемости в Российской Федерации» (на 2011–2015 гг.), утв. руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 21 декабря 2010 г.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Светоч Э.А., Степаншин Ю.Г., Манзенюк И.Н., Степанов А.В., Храмов М.В., Рудницкий С.Ю., Борзенков В.Н., Ерусланов Б.В., Шобухова Т.С., Лобковский А.Г., Безобразова С.В., Попова Т.А. Чувствительность *Escherichia coli* O157:H7, возбудителя геморрагического колита, к антибактериальным препаратам. *Антибиотики и химиотерапия*. 1998; 43 (11): 16–20. Кафтырева Л.А., Макарова М.А., Коновалова Т.А., Матвеева З.Н. Характеристика энтерогеморрагической *Escherichia coli* O145:H28, выделенной от пациента с гемолитико-уремическим синдромом. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2013; 5: 100–104.
2. Padhye N.V., Doyle M.P. *Escherichia coli* O157:H7 epidemiology, pathogenesis and methods for detection in food. *J. Food Protect.* 1992; 55: 555–565.
3. Garg A.X., Suri R.S., Barrowman N., Rehman F., Matsell D., Rosas-Arellano M.P., Salvadori M., Haynes R.B., Clark W.F. Long-term renal prognosis of diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *JAMA*. 2003; 290 (10): 1360–1370.
4. Karch H., Tarr P.I., Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int. J. Med. Microbiol.* 2005; 295 (6–7): 405–418.

5. Soon J.M., Seaman P., Baines R.N. *Escherichia coli* O104:H4 outbreak from sprouted seeds. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2012; 216 (3): 346–354.
6. Brooks J.T., Sowers E.G., Wells J.G., Greene K.D., Griffin P.M., Hoekstra R.M., Strockbine N.A. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983–2002. *J. Infect. Dis.* 2005; 192 (8): 1422–1429.
7. Manning S.D., Motiwala A.S., Springman A.C. Variation in virulence among clades of *Escherichia coli* O157:H7 associated with disease outbreaks. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2008; 105: 4868–4873.
8. Tilden J., Jr., Young W., McNamara A.M., Custer C., Boesel B., Lambert-Fair M.A., Majkowski J., Vugia D., Werner S.B., Hollingsworth J., Morris J.G., Jr. A new route of transmission for *Escherichia coli*: infection from dry fermented salami. *Am. J. Public Health.* 1996; 86 (8): 1142–1145.
9. Machado J., Grimont F., Grimont P.A. Identification of *Escherichia coli* flagellar types by restriction of the amplified fliC gene. *Res Microbiol.* 2000; 151 (7): 535–546.
10. Веревкин В.В., Воложанцев Н.В., Степаншин Ю.Г., Светоч Э.А., Мякинина В.П. Штамм бактериофага *Escherichia coli* V32 для идентификации бактерий *Escherichia coli* серогруппы O157. Патент RU № 2425877. Заявка: 2010106806/10, 26.02.2010, опубл. 10.08.2011. Бюлл. № 22.
11. Friedrich A.W., Bielaszewska M., Zhang W.L., Pulz M., Kuczus T., Ammon A., Karch H. *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. *J. Infect. Dis.* 2002; 185 (1): 74–84.
12. Zhang W.L., Kohler B., Oswald E., Beutin L., Karch H., Morabito S., Caprioli A., Suerbaum S., Schmidt H. Genetic diversity of intimin genes of attaching and effacing *Escherichia coli* strains. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 4486–4492.
13. Ramachandran V., Brett K., Hornitzky M.A., Downton M., Betelheim K.A., Walker M.J., Djordjevic S.P. Distribution of intimin subtypes among *Escherichia coli* isolates from ruminant and human sources. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41: 5022–5032.
14. Cookson A.L., Cao M., Bennett J., Nicol C., Thomson-Carter F., Attwood G.T. Relationship between virulence gene profiles of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* and Shiga toxin-producing *E. coli* isolates from cattle and sheep in New Zealand. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76 (11): 3744–3747.
15. Centers for Disease Control and Prevention. 2002–2003 Foodnet population survey. URL: <http://www.cdc.gov/foodnet/surveys/pop/2002/2002Atlas.pdf> Accessed 15 December 2009.
16. Perelle S., Dilasser F., Grout J., Fach P. Screening food raw materials for the presence of the world's most frequent clinical cases of Shiga toxin-encoding *Escherichia coli* O26, O103, O111, O145 and O157. *Int. J. Food Microbiol.* 2007; 113 (3): 284–288.
17. Nyholm O., Heinikainen S., Pelkonen S., Hallanvuos S., Haukka K., Siitonen A. Hybrids of Shigatoxigenic and Enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/ETEC) Among Human and Animal Isolates in Finland. *Zoonoses Public Health.* 2015. Doi: 10.1111/zph.12177 [Epub ahead of print].
18. Weisbecker A. A legal history of raw milk in the United States. *J. Environ. Health.* 2007; 69 (8): 62–63.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Опищенко 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@apr.gov.ru

**Дятлов Иван Алексеевич**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-00-03, e-mail: dyatlov@obolensk.org

**Светоч Эдуард Арсеньевич**, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий отделом молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-00-79,

e-mail: svetoch@obolensk.org

**Воложанцев Николай Валентинович**, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-01-47, e-mail: nikvol@obolensk.org

**Баннов Василий Александрович**, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-00-79, e-mail: bannov@online.stack.net

**Карцев Николай Николаевич**, научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-00-79,

e-mail: karcev.nikoay@mail.ru

**Борзенков Валерий Николаевич**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-00-79, e-mail: vbn5314@mail.ru

**Фурсова Надежда Константиновна**, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-00-79, e-mail: fursova@obolensk.org

**Шемякин Игорь Георгиевич**, доктор биологических наук, профессор, заместитель директора по научной работе ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-00-60,

e-mail: shemyakin@obolensk.org

**Богун Александр Геннадиевич**, кандидат биологических наук, заведующий отделом коллекционных культур ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-00-00, e-mail: bogun@obolensk.org



**Кисличкина Ангелина Александровна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела коллекционных культур ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-00-00,  
e-mail: angelinakislichkina@yandex.ru

**Попова Анастасия Владимировна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-01-47,  
e-mail: popova\_nastya86@mail.ru

**Мякинина Вера Павловна**, научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-01-47, e-mail: verpalmak@mail.ru

**Теймуразов Марат Георгиевич**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории анти-микробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-00-79,  
e-mail: marat\_teimurazov@mail.ru

**Полосенко Ольга Вадимовна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физико-химических и микробиологических методов анализа ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, тел.: +7 (4967) 36-00-20,  
e-mail: polosenko.olga@yandex.ru

**Кафтырева Лидия Алексеевна**, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией кишечных инфекций НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14, тел.: +7 (812) 313-69-88, e-mail: pasteur@lk14290.spb.edu

**Макарова Мария Александровна**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14, тел.: +7 (812) 313-69-88, e-mail: makmaria@mail.ru

**Матвеева Зоя Николаевна**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14, тел.: +7 (812) 313-69-88, e-mail: pasteur@lk14290.spb.edu

**Гречанинова Татьяна Александровна**, врач-бактериолог, заместитель главного врача Центра гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге по организации лабораторного дела

Адрес: 191023, Санкт-Петербург, ул. Малая Садовая, д. 1, тел.: +7 (812) 570-60-78, e-mail: tatyana\_grechani@mail.ru

**Григорьева Наталья Сергеевна**, врач-бактериолог, заведующая бактериологической лабораторией Центра гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге

Адрес: 192102, Санкт-Петербург, Волковский проспект, д. 77, тел.: +7 (812) 490-57-76, e-mail: fguz\_labback\_spb@mail.ru

**Кича Елена Вячеславовна**, врач-бактериолог бактериологической лаборатории Центра гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге

Адрес: 192102, Санкт-Петербург, Волковский проспект, д. 77, тел.: +7 (812) 405-75-14, e-mail: fguz\_labback\_spb@mail.ru

**Забалуева Галина Викторовна**, врач-бактериолог, заведующая лабораторией особо опасных и вирусологических исследований Центра гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге

Адрес: 198099, Санкт-Петербург, ул. Оборонная, д. 35, лит. А, тел.: +7 (812) 786-87-00, e-mail: fguzlaboovir\_spb@mail.ru

**Кутасова Татьяна Борисовна**, врач-эпидемиолог, заведующая отделом эпидемиологии инфекционных и особо опасных заболеваний Центра гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге

Адрес: 191023, Санкт-Петербург, ул. Малая Садовая, д. 1, тел.: +7 (812) 570-60-87, e-mail: epid@78cge.ru

**Коржаев Юрий Николаевич**, главный врач Центра гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге

Адрес: 191023, Санкт-Петербург, ул. Малая Садовая, д. 1, тел.: +7 (812) 570-38-11, e-mail: centr@78cge.ru

**Башкетова Наталья Семеновна**, заместитель руководителя Управления Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу

Адрес: 191025, Санкт-Петербург, ул. Стремянная, д. 19, тел.: +7 (812) 764-54-38, e-mail: uprav@78rospotrebnadzor.ru

**Бушманова Ольга Николаевна**, главный специалист-эксперт Управления Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу

Адрес: 191025, Санкт-Петербург, ул. Стремянная, д. 19, тел.: +7 (812) 764-55-87, e-mail: uprav@78rospotrebnadzor.ru

**Сталевская Анна Владимировна**, кандидат медицинских наук, заместитель руководителя Управления Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу

Адрес: 191025, Санкт-Петербург, ул. Стремянная, д. 19, тел.: +7 (812) 764-58-77, e-mail: uprav@78rospotrebnadzor.ru

**Чхинджерия Ирина Григорьевна**, начальник отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу

Адрес: 191025, Санкт-Петербург, ул. Стремянная, д. 19, тел.: +7 (812) 575-81-04, e-mail: uprav@78rospotrebnadzor.ru

**Жебрун Анатолий Борисович**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14, тел.: +7 (812) 313-69-88, e-mail: pasteurdnt@yandex.ru

Л.С. Намазова-Баранова<sup>1, 2, 3</sup>, Р.Е. Суворов<sup>4</sup>, И.В. Смирнов<sup>4</sup>, А.И. Молодченков<sup>4</sup>, Е.В. Антонова<sup>1</sup>,  
Е.А. Вишнёва<sup>1</sup>, В.И. Смирнов<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

<sup>3</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва,  
Российская Федерация

<sup>4</sup> Институт системного анализа Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

## Управление рисками пациента на основе технологий удаленного мониторинга здоровья: состояние области и перспективы

*Обзор посвящен проблеме удаленного контроля состояния здоровья. Рассматриваются и анализируются существующие подходы к организации наблюдения за пациентом на дому с помощью технологий телемедицины. Предлагается новый подход к управлению рисками пациента, отвечающий в том числе требованиям педиатрического лечебного учреждения.*

**Ключевые слова:** электронное здравоохранение, телемедицина, удаленный мониторинг здоровья, управление рисками пациента, дети.  
(Вестник РАМН. 2015; 1: 82–89)

82

### Введение

Электронное здравоохранение (e-Health) — относительно новое понятие в медицине: оно используется в мире лишь с 1999 г. [1]. Своим возникновением понятие обязано развитию электроники и информационных технологий. При этом термин используют и для определения в широком смысле медицинской информатики, охватывающей электронные процессы в здравоохранении [2], и для узкого обозначения использования Интернет-технологий в медицине [3–7].

Электронное здравоохранение подразумевает непрерывную интеграцию всей совокупности инфокоммуникационных технологий и современного здравоохранения в глобальную инфраструктуру, основанную на взаимодействии заинтересованных сторон (представителей регулирующих органов, коммерческих участников процес-

са и финансово не заинтересованных лиц), зависимость от локальных особенностей (территориальных и уровней), определяющую как частные исходы, так и перспективы дальнейшего развития медицины в целом [8].

При этом понятие «электронное здравоохранение» включает в себя также портативные технологии удаленного наблюдения (например, мобильные приложения для смартфонов) — mHealth.

Электронное здравоохранение зародилось во второй половине XX в. в США. В то время его целью было сокращение расходов за счет минимизации числа посещений клинических учреждений и рисков повторной госпитализации. Для достижения этих целей применяли удаленный мониторинг основных показателей состояния здоровья. На ранних этапах развития отрасли взаимодействие пациента и врача осуществлялось посредством телефонных звонков, затем для этого начали применять компьютеры

L.S. Namazova-Baranova<sup>1, 2, 3</sup>, R.E. Suvorov<sup>4</sup>, I.V. Smirnov<sup>4</sup>, A.I. Molodchenkov<sup>4</sup>, E.V. Antonova<sup>1</sup>,  
E.A. Vishneva<sup>1</sup>, V.I. Smirnov<sup>1</sup>

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

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

<sup>3</sup> N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

<sup>4</sup> Institute for Systems Analysis of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

## Risk Management of a Patient on the Basis of Remote Health Monitoring: Current Situation and Prospects

*Review is dedicated to the problem of remote monitoring of health status. Existing approaches to the organization of an outdoor monitoring of a patient using telemedicine technologies are reviewed and analyzed. A new approach to risk management of a patient which meets the requirements of pediatric hospital is provided.*

**Key words:** e-health, telemedicine, remote health monitoring, risk management of a patient, children.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 82–89)

и мобильные устройства (электронная почта, видеосвязь, специализированные приложения и подключаемое оборудование).

Дальнейший активный процесс информатизации здравоохранения обусловил интеграцию возможностей информационных технологий и гармонизацию их применения в условиях отрасли. В настоящее время понятие «электронное здравоохранение» охватывает весь спектр услуг, систем и технологий, объединяющих здравоохранение и информационные технологии:

- электронные медицинские базы данных — персональные карты пациентов с возможностью доступа и передачи данных между различными специалистами здравоохранения, опцией оформления и передачи рецептов непосредственно фармацевту;
- телемедицина — удаленные консультации пациентов, а также консилиумы специалистов, в т.ч. телемониторинг различных жизненных параметров пациентов на расстоянии как часть самых разных этапов оказания медицинской помощи — диагностического, лечебного (для контроля за состоянием), профилактического и реабилитационного;
- мобильная телемедицина — использование мобильных устройств и приложений для обеспечения контроля над состоянием пациента — в настоящее время одна из самых актуальных задач как для практических врачей, так и для исследователей и самих пациентов; мониторинг жизненно важных функций и параметров пациента в реальном времени с возможностью непосредственного оказания медицинской помощи (посредством мобильной телемедицины);
- информационные технологии как здоровьесберегающий фактор — обучающие электронные ресурсы с популярной медицинской информацией, ориентированные как на здоровых людей, так и непосредственно на пациентов;
- информатизация в целях обеспечения непрерывного обучающего процесса — профессиональные программы и семинары обучающего характера, ресурсы, обеспечивающие своевременное представление лучших медицинских публикаций, современных рекомендаций или эпидемиологических данных (например, Medscape и MDLinx);
- виртуальное ассистирование и поддержка принятия решений в здравоохранении с использованием цифрового оборудования;
- информационный медицинский аудит и администрирование;
- информационные технологии в медицинских исследованиях — в вычислительных процессах для обработки больших массивов разнородных данных [9];
- программные решения планирования, управления в здравоохранении.

В современных условиях телемедицина как неотъемлемая часть электронного здравоохранения стремительно развивается. Однако интеграция возможностей информационных технологий электронного здравоохранения в клиническую практику происходит не так быстро.

Данная статья представляет собой обзор публикаций в области электронного здравоохранения и их анализ как с технической точки зрения, так и с точки зрения возможности построения интегрированной медицинской информационной системы. Кроме того, анализируются перспективы развития систем удаленного мониторинга состояния здоровья пациентов, а также недостатки существующих систем. Предлагаются варианты решения этих проблем.

В обзор включены публикации по следующим темам:

- организация удаленного сбора данных о пациентах;
- автоматический анализ клинических данных.

При отборе систем электронного здравоохранения учитывали следующие их характеристики:

- цели систем;
- взаимодействие пациентов и врачей;
- обучение и влияние на образ жизни — формирование здоровьесохраняющих стереотипов поведения (исключение курения, адекватная физическая активность и т.д.);
- самоконтроль здоровья.

### Современное состояние проблемы

В условиях высокой распространенности многих социально значимых болезней среди пациентов детской возрастной категории, неуклонного роста числа больных с хронической патологией важным представляется внедрение информационно-коммуникационных технологий в процесс взаимодействия врача и пациента с целью оптимизации оказания медицинской помощи. Однако в настоящее время как для врачей практического звена, так и для научных специалистов возможность использования технологий удаленного медицинского мониторинга (мобильной телемедицины) для ранней диагностики, контроля состояния пациента, оценки приверженности терапии отсутствует полностью либо крайне ограничена. Именно поэтому наиболее актуальным представляется решение задачи проектирования, разработки и внедрения отечественных мобильных телемедицинских систем.

В большинстве работ, посвященных телемедицине, авторы анализируют проблему с нескольких сторон и, как правило, отвечают на несколько вопросов из двух нижеприведенных групп.

- Исследование социальных и экономических аспектов телемедицины (оценка полезности):
  - какие именно функции телемедицинских систем необходимы;
  - вопросы обучения пользователей, в т.ч. пожилых;
  - влияние телемедицинских систем на качество жизни пациентов;
  - возможные и фактические экономические выгоды от внедрения телемедицинских систем.
- Представление информационных систем или архитектур:
  - системы удаленного сбора и хранения информации о здоровье пациента;
  - вопросы интеграции данных из различных источников, стандартизация;
  - вопросы удаленного взаимодействия врача и пациента;
  - интеллектуальный анализ данных с целью поддержки принятия решений, в т.ч. оперативного реагирования.

Возможные экономические и социальные выгоды — одна из причин развития телемедицины. Например, В. Holtz и соавт. представили обзор исследований, посвященных применению мобильных телефонов для наблюдения за больными диабетом. Используемые приложения для телефонов, помимо возможности обмена текстовыми сообщениями, включали дополнительные функции. Приложения разрабатывали под конкретное исследование, и они не реализовывали общепринятых стандартов. В различных исследованиях польза информационных технологий варьировала, но прослеживались

положительные изменения в содержании гликированного гемоглобина, общем самочувствии, уверенности и самоконтроле [10]. Однако в исследованиях не была учтена клиничко-экономическая составляющая использования мобильных телефонов, не проанализированы возможности внедрения этой формы телемедицинских технологий в практику. J. Wang и соавт. представлен обзор 16 статей, посвященных приложениям для смартфонов, предназначенным для поддержки больных диабетом, психическими расстройствами, избыточным весом, раком и т.п. [11]. По результатам обзора авторы пришли к заключению, что применение информационных технологий хотя бы частично помогает контролировать состояние здоровья пациентов с хронической патологией. Благодаря использованию телемедицинских технологий пациенты начинали чувствовать себя безопаснее, ощущали внимание врача, повышалась их приверженность рекомендациям, улучшался самоконтроль. Однако существующие в настоящее время информационные приложения не удовлетворяют всем требованиям, предъявляемым к системам удаленного мониторинга хронических больных. N. Pearsaud и соавт. провели апробацию приложения для планшетных компьютеров, обеспечивающего сбор жизненных показателей через подключаемые устройства, а также связь между врачом и пациентом в виде текстовых сообщений, у пожилых пациентов [12]. Были проведены обучающие курсы, и спустя 2 нед после начала использования телемедицинского комплекса пациенты смогли самостоятельно выполнять рекомендованные назначения. N. Archer и соавт. рассмотрели вопрос построения информационных систем для предоставления пользователям информации об их здоровье [13]. Авторы указывают на то, что по большей части системы ориентированы на врачей и не предполагают наличия «дружественного» интерфейса для обычных пользователей — пациентов. Согласно мнению авторов этой статьи, внедрение телемедицинских информационных систем приводит к значительной экономии средств бюджета здравоохранения, но к весьма незначительному улучшению качества медицинской помощи. R.F. Dixon и соавт. описана возможность катанестического наблюдения пациентов с хронической патологией, выписанных после стационарного этапа на амбулаторное долечивание с помощью «виртуальных визитов» [14]. После выписки пациенты периодически заполняли специальный опросник на веб-сайте; результаты оценивал специалист. В итоге и пациенты, и врачи были удовлетворены как качеством оказанных услуг, так и количеством времени, затраченного на асинхронную телеконсультацию.

Большинство современных систем используют мобильные устройства (планшеты и смартфоны под операционные системы Android или iOS) в качестве конечных узлов при взаимодействии с пользователем [12, 15–18]. Существуют также системы, использующие для тех же целей веб-интерфейс [14, 19, 20].

Существуют различные способы организации сбора жизненных показателей с помощью беспроводных локальных сетей [21–24]. Интегрированные в них датчики можно разделить на 2 группы: устройства, находящиеся на теле пациента, и устройства, устанавливаемые в жилых помещениях. К первой группе относятся тревожные кнопки, акселерометры, датчики пульса, частоты и объема дыхания, температуры тела, давления, пульсоксиметр, глюкометр, GPS-передатчик, а также имплантируемые устройства [25]. Вторая группа включает в себя датчики занятости кровати, концентрации газа, дыма, наличия

огня, датчики объема (выхода из помещения), веса. Различные комбинации этих датчиков позволяют оценивать уровень подвижности пациента, его общее физическое состояние, а в некоторых случаях — даже проводить специальную диагностику (например, определять начало эпилептического припадка с помощью датчика ритма дыхания и частоты пульса). Разработано и представлено приложение для смартфона, диагностирующее хронические болезни сердца и легких, в т.ч. хроническую обструктивную болезнь легких [26–29].

Удаленная коммуникация между врачом и пациентом обычно реализуется посредством текстовых сообщений [12, 16], голосовой или видеосвязи [16], своевременного оформления рецептов на лекарственные препараты [13, 30], напоминаний о выполнении рекомендаций [20], а также опросников [12, 14, 20]. Напоминания и опросники, как правило, составляют разработчики системы под различные случаи клинической практики.

Системы обычно строятся по трехзвенной архитектуре: сеть датчиков, локальное агрегирующее устройство (его роль зачастую выполняет смартфон) и центральный сервер. Локальное агрегирующее устройство отвечает за сбор и предварительную фильтрацию информации с датчиков, которая затем отправляется на центральный сервер [21, 31]. Аналогичным образом построены системы для стационаров [32–34].

S.T. Doherty и соавт. рассмотрена информационная система, состоящая из смартфона, сети беспроводных датчиков (GPS, ЭКГ, акселерометра и глюкометра) и центрального сервера [17]. Помимо сбора данных через датчики система предлагала пользователям заполнять дневник о составе и времени приема пищи. Апробация проведена с участием 40 пациентов в течение 3 сут. Среди проблем были выявлены следующие: нехватка емкости аккумулятора смартфона и пренебрежение пациентами необходимостью ведения дневника.

### Передача и анализ данных

Следующий важный момент — это организация процесса передачи данных с целью их хранения и анализа. Медицинская информационная система (МИС) с интегрированной в нее телемедицинской частью способна генерировать огромный поток данных. Подходы к решению этой проблемы включают простой анализ данных на локальном агрегирующем устройстве (смартфоне), сжатие и фильтрацию данных [18].

С целью упрощения интеграции различных компонентов от сторонних производителей для построения целостной МИС с учетом нужд конкретного лечебного заведения при разработке программной части применяется парадигма сервисно-ориентированного программирования [35–37]. Объектная модель данной предметной области имеет сложную структуру, поэтому для организации хранения данных естественно применять реляционные системы управления базами данных (СУБД), а для обмена информацией между разными системами — стандартизированные платформонезависимые протоколы, например, на основе языка разметки документов XML [38]. Следует также упомянуть систему MyOSCAR, ориентированную на интеграцию данных из нескольких источников и предоставление ее пациенту в удобной форме с возможностью управления правами доступа [30]. В качестве стандартов в этой области упоминаются Health Level 7 (Digital Imaging and Communications in Medicine, DICOM), разработанные в рамках инициати-

вы консорциума радиологов и ИТ-экспертов Integrating the Healthcare Enterprise [31].

С точки зрения интегрированности интеллектуального анализа данных с целью диагностики или прогнозирования обострений состояния пациента системы можно разделить на 3 группы:

- организующие сбор и не имеющие модуля анализа данных;
- не организующие сбора, но реализующие анализ данных для узкого спектра заболеваний;
- организующие сбор и реализующие анализ данных для узкого спектра заболеваний.

К первой группе относится подавляющее большинство указанных выше систем.

Ко второй группе можно отнести систему ALaRMS [39], предназначенную для прогнозирования риска наступления летального исхода при острых ситуациях в стационаре. В качестве рабочей модели применяется логистическая регрессия по возрасту, полу, набору диагнозов и данным лабораторных исследований в день поступления. Система, представленная A.G. Dunn и соавт., предназначена для оценки влияния отклонений от предписаний медицинских технологических процессов на неблагоприятные исходы в каждой конкретной клинике [40]. Задача решается с помощью многоагентного моделирования. Согласно позиции авторов, медицинские предписания могут быть нечетко сформулированы и, как результат, трактоваться по-разному. В ходе работы алгоритма генерируется множество возможных траекторий, по которым может пойти процесс лечения при различных нарушениях, и которые могут привести к нежелательным последствиям. При генерации траекторий различные варианты получаются за счет рассмотрения ошибок трех видов: умышленное отклонение, неумышленное отклонение и недопонимание (недополучена информация или сообщена неверная информация). Для каждого агента задается распределение вероятностей появления известных отклонений. Модель апробирована для анализа организационных причин возникновения неблагоприятных исходов, однако не применялась для прогнозирования возможных исходов, хотя авторы допускают такую возможность.

Третья группа — самая малочисленная. В первую очередь стоит упомянуть систему WANDA [15], ориентированную на наблюдение за пациентами с сердечной недостаточностью. Во время апробации системы пациенты пользовались весами, тонометрами, датчиками физической активности, соединенными со смартфоном по протоколу Bluetooth. На смартфон было установлено приложение, входящее в состав WANDA. Предсказание изменения состояния больных (улучшение или ухудшение симптомов) осуществлялось с помощью известных методов машинного обучения для классификации и регрессии (наивный Байесовский классификатор, «пять ближайших соседей», логистическая регрессия, метод голосования по интервалам признаков, деревья решений C 4.5 и др.). Признаковое пространство содержало такие характеристики эмпирических распределений вероятностей, как дневное изменение систолического и диастолического кровяного давления, дневное изменение веса, а также их вторые моменты, рассчитанные за более длительный период (3 и 7 сут). В качестве исходных данных для формирования эталонных значений самочувствия использовали результаты ежедневных опросов, а в качестве метрик качества — уровень ошибок первого и второго рода. V. Nepov и соавт. представлена одна из первых систем в области телемедицины, предназначенная

для сбора и анализа показателей пациентов нейрохирургических стационаров [19]. Система помогает врачам принимать решения, предоставляя функции специализированного поиска по истории болезни. В работе П.Е. Григорьева и соавт. рассмотрен аппаратно-программный комплекс мониторинга общего состояния человека, учитывающий разнообразные показатели: от активности нервной системы до гемодинамики [41]. E. Vavrinsky и соавт. описывается система поддержки принятия решений для удаленного мониторинга. В качестве исходных данных используют как сети датчиков, так и опросники и электронные медицинские карты [23]. В качестве рабочей модели применяют производственные правила. В ряде исследований проанализирована возможность интеграции системы удаленного мониторинга в решения класса «умный дом» [22, 42–45].

Исследование, проведенное Центром технологий по уходу за пожилыми людьми (Leading Age: Center for Aging Services Technologies) [46], указывает на следующие главные проблемы внедрения телемедицинских информационных систем:

- высокая стоимость, в т.ч. ввиду необходимости закупки специального оборудования;
- административная проблема в виде необходимости обучения и мотивирования как персонала, так и пациентов;
- отсутствие единой архитектуры, стека протоколов и, самое главное, аппаратно-программной платформы для интеграции систем на всех этапах процесса — от сбора данных до ее обработки, принятия решения и обратной связи с пациентом; это, в свою очередь, влечет необходимость специальной интеграции нескольких систем для каждого лечебного заведения с учетом его специфики (что также дополнительно увеличивает стоимость).

На вышеобозначенные проблемы указывают и авторы других работ [13].

Для уменьшения стоимости внедрения телемедицинских систем N. Persaud и соавт. предлагают размещение смартфонов с набором датчиков в общественных местах, чтобы пациентам не приходилось покупать все оборудование [12]. Однако такая схема применима в основном в лечебно-профилактических организациях (несколько точек сбора показателей на корпус или этаж), а также только для пациентов, способных самостоятельно передвигаться.

В России активно ведутся разработки в области удаленного мониторинга здоровья. Одной из них является сервис «Медархив» [47], который предназначен для информационной поддержки деятельности врачей и работает как площадка обмена медицинской информацией между врачом и пациентом. Одним из сервисов является удаленный сбор медицинской информации о пациенте. Сбор данных осуществляется путем заполнения персональных медицинских карт с помощью веб-портала или мобильных приложений. «Медархив» имеет возможность работать с двумя устройствами телемониторинга — кардиографом и тонометром. При обращении к разработчикам сервиса существует опция подключения и других устройств. В итоге врач может в удобном для него виде просматривать всю информацию о своих пациентах, включая динамику изменения показателей. Оценку состояния здоровья пациента на основе полученной информации врач делает самостоятельно.

Разработки в области удаленного мониторинга состояния здоровья ведутся также и компанией «ФОБОС» [48]. Для удаленного мониторинга был разработан аппаратно-

программный комплекс СИМОНЗ, предназначенный для удаленного мониторинга основных показателей здоровья человека с использованием беспроводных измерительных устройств, средств регистрации и передачи данных. Эта система работает с устройствами под управлением операционной системы Android 4.0+. С помощью СИМОНЗ можно фиксировать следующие параметры:

- артериальное давление;
- концентрацию глюкозы в сыворотке крови;
- насыщенность гемоглобина кислородом;
- температуру тела;
- ЭКГ;
- ЭЭГ;
- результаты пикфлоуметрии.

Группа компаний «АйТи» занимается разработкой системы дистанционного мониторинга здоровья «Монитор здоровья» [49]. Система предназначена для мониторинга пациентов с обострением сердечно-сосудистых и эндокринных заболеваний. Эта система может быть использована для решения следующих задач:

- мониторинг состояния здоровья пациентов с хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой системы;
- мониторинг состояния здоровья пациентов с сахарным диабетом 1-го и 2-го типа;
- послеоперационное наблюдение;
- мониторинг пациентов с нефрологическими заболеваниями;
- мониторинг состояния здоровья больных, которым оказывается паллиативная медицинская помощь;
- ведение беременности.

Система может быть внедрена в медицинское учреждение или использоваться как удаленный сервис.

Компания «ФОРС» разработала платформу REMSMED для удаленного взаимодействия между врачами и пациентами [50]. Эта платформа включает в себя следующие компоненты:

- единый портал с доступом врачей и пациентов (содержит данные о состоянии здоровья пациентов и рекомендации врачей по их лечению);
- мобильное приложение для iOS и Android;
- многоканальную систему взаимодействия пользователей — текстовые сообщения, видео-конференцсвязь и документы (ЭКГ, УЗИ, рентгеновские снимки, результаты лабораторных исследований и т.д.);
- настраиваемую систему напоминаний о необходимых действиях пациента и предупреждений о тревожных

состояниях с доставкой уведомлений по электронной почте и SMS;

- настраиваемую экспертную систему предупреждений врачу о необходимости обратить внимание на пациента;
- систему интеграции с персональными медицинскими измерительными приборами;
- систему интеграции с МИС, используемой в лечебном учреждении.

Возможные сферы применения — кардиология, эндокринология, ведение беременности, педиатрия, сомнология, травматология, спортивная и профилактическая медицина.

Таким образом, обзор работ по теме подтверждает необходимость разработки технологической платформы для построения систем удаленного мониторинга, обладающей следующими характеристиками:

- модульная архитектура для упрощения интеграции с различными медицинскими информационными системами и сетями сбора жизненных показателей;
- аналитический модуль с возможностью достаточно простой настройки на мониторинг и управление рисками изменения состояния здоровья пациентов с широким спектром заболеваний.

### Архитектура системы мониторинга здоровья

Элементы архитектуры системы мониторинга здоровья представлены на рис.

Основными действующими лицами в системе являются врач, пациент и эксперт. Задача пациента — вовремя отправлять данные о состоянии своего здоровья. Сбор данных осуществляется путем заполнения пациентом специальных дневников: дневника здоровья, пищевого дневника и др. Информация, необходимая для контроля состояния здоровья пациента, вводится через интерфейс пользователя либо пациентом вручную, либо с помощью специальных медицинских устройств (мини-кардиограф, устройство для считывания значения артериального давления и др.). Эти устройства должны иметь сертификат, позволяющий использовать их в Российской Федерации, и возможность синхронизации с мобильным устройством. Взаимодействие с этими устройствами настраивают при помощи подсистемы синхронизации с медицинскими устройствами. Вся введенная пользователем информация сохраняется на сервере медицинского учреждения с помощью подсистемы удаленного сбора данных. Контролем своевременного сбора данных от пациентов и их обработкой занимается подсистема контроля состояния пациента. Через подсистему пациенту высылают уведомление о необходимости заполнить его электронные дневники в случаях, если он не делает этого вовремя. Оценку состояния больного осуществляют с использованием набора правил, который хранится в базе знаний. Если наблюдается незначительное ухудшение состояния больного, не требующее обращения к специалисту, то пациенту высылают рекомендации о том, что нужно сделать для улучшения состояния. Если состояние пациента требует обращения к врачу, ему отправляют уведомление о необходимости очной консультации со специалистом. Если возникает ситуация, требующая некоторых активных действий со стороны лечащего врача, то врач получает уведомления об этом. Все уведомления и рассылки осуществляются через подсистему уведомлений.

Ознакомиться с данными о состоянии здоровья пациента врач может с помощью интерфейса пользователя

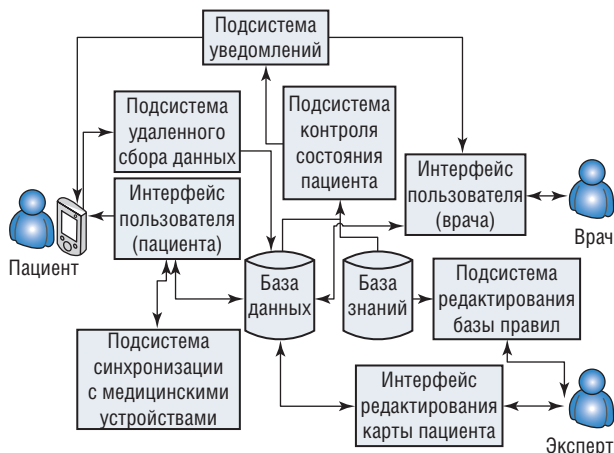


Рис. Общая архитектура системы мониторинга здоровья.

(врача). В отличие от интерфейса пользователя для пациента врачу предоставляется более полная информация о состоянии здоровья больного, включая динамику изменений значений отдельных параметров. Интерфейс пользователя (врача) предоставляет специалисту ряд инструментов для проведения очной консультации. В качестве таких инструментов выступают различные шкалы, калькуляторы и др. Они подбираются в соответствии с заболеванием пациента, а результаты исследований и расчетов записываются в базу данных.

Редактированием базы знаний и карт пациента занимается эксперт. Подсистема редактирования базы правил предоставляет эксперту набор инструментов для редактирования и тестирования правил, хранящихся в базе знаний. С помощью интерфейса редактирования карты пациента эксперт может редактировать параметры пациента, за которыми необходимо следить пациенту, создавать дневники, вводить шкалы и параметры, с которым работает врач во время очной консультации.

В дополнение ко всем описанным функциям в систему мониторинга здоровья добавляется возможность интеграции с МИС, установленной в медицинском учреждении. Возможность интеграции добавляется в интерфейс пользователя врача на тот случай, если врачу понадобится получить информацию из МИС.

### Заключение

Обзор основных разработок в области удаленного мониторинга здоровья пациентов показал, что несмо-

тря на достаточно большое число существующих систем удаленного мониторинга здоровья пациентов, почти все они обеспечивают только сбор данных о состоянии пациента, тогда как вся аналитическая часть ложится на плечи врача. Также продемонстрировано, что почти все современные разработки ориентированы на пожилых и взрослых людей. Помимо обзора существующих разработок в области удаленного мониторинга предложена архитектура интеллектуальной системы мониторинга и анализа здоровья пациентов. В предложенной архитектуре кроме функции сбора информации о пациенте также имеется подсистема контроля состояния пациента, предназначенная для автоматической оценки состояния. Дальнейшим перспективным направлением работ в этой области является разработка прототипа системы удаленного мониторинга состояния здоровья пациентов, ориентированной не только на взрослых и пожилых людей, но и на детей.

### Конфликт интересов

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках проекта № 13-04-12055 «Разработка моделей, алгоритмов и экспериментальных программных средств комплексной системы подготовки индивидуальных программ управления рисками возникновения заболевания и анализа состояния здоровья на основе технологий удаленного медицинского мониторинга (на примере педиатрии)».

### ЛИТЕРАТУРА

- Vincenzo D.M. What is e-Health (2): The death of telemedicine? *J. Med. Int. Res.* 2001; 3 (2): 22.
- International Telecommunication Union. Implementing e-Health in Developing Countries: Guidance and Principles. *Geneva: ITU.* 2008. URL: [http://www.itu.int/ITU-D/cyb/app/docs/e-Health\\_prefinal\\_15092008.PDF](http://www.itu.int/ITU-D/cyb/app/docs/e-Health_prefinal_15092008.PDF). Geneva: ITU; 2008. URL: [http://www.itu.int/ITU-D/cyb/app/docs/e-Health\\_prefinal\\_15092008.PDF](http://www.itu.int/ITU-D/cyb/app/docs/e-Health_prefinal_15092008.PDF) (available: 16.10.2014).
- HIMSS SIG develops proposed e-Health definition. *HIMSS News.* 2003; 13 (7): 12.
- Eysenbach G. The role of e-Health and consumer health informatics for evidence-based patient choice in the 21st century. *Clin. Dermatol.* 2001; 19 (1): 11–17.
- Ball M.J., Lillis J. E-Health: transforming the physician/patient relationship. *Int. J. Med. Inform.* 2001; 61 (1): 1–10.
- Pagliari C., Sloan D., Gregor P., Sullivan F., Detmer D., Kahan J., Oortwijn W., MacGillivray S. What Is e-health (4): A Scoping Exercise to Map the Field. *J. Med. Int. Res.* 2005; 7 (1): 9.
- Ahern D.K., Kreslake J.M., Phalen J.M., Bock B. What is e-Health (6): Perspectives on the Evolution of e-Health Research. *J. Med. Inter.Res.* 2006; 8: e4.
- Oh H., Rizo C., Enkin M., Jadad A. What is e-Health (3): A Systematic Review of Published Definitions. *J. Med. Int. Res.* 2005; 7 (1) 32–40.
- Fingberg J., Hansen M., Hansen M., Krasemann H., Lo L.I., Probst T., Wright J. Integrating Data Custodians in e-Health Grids: A Digest of Security and Privacy Aspects. *GI Jahrestagung.* 2006; 1: 695–701.
- Holtz B., Lauckner C. Diabetes management via mobile phones: a systematic review. *Telemedicine and e-Health.* 2012; 18 (3): 175–184.
- Wang J., Wang Y., Wei C., Aaron N., Yuan A., Shan Y., Yuan C. Smartphone Interventions for Long term Health Management of Chronic Diseases. *Telemedicine and e-Health.* 2014, 20 (6): 570–583.
- Persaud N., Moffitt G., Kravette K., DeRoss A., Jean F., Gaur C., Gaur D. Wellness for older adults: Usability and benefits of telehealth monitoring. In: Proceedings of Student-Faculty Research Day, CSIS, Pace University. NY: *White Plains.* 2013. Retrieved from <http://csis.pace.edu/~ctappert/srd2013/a5.pdf> (Available: 16.10.2014).
- Archer N., Fevrier-Thomas U., Lokker C., McKibbin S. Straus Personal health records: a scoping review. *J. Am. Med. Inform. Association.* 2011; 18 (4): 515–522.
- Dixon R.F., Rao L. Asynchronous Virtual Visits for the follow up of Chronic Conditions. *Telemedicine and e-Health.* 2014, 20 (7): 669–672.
- Lan M., Samy L., Alshurafa N., Suh M, Ghasemzadeh H., Macabasco-O’Connell A., Sarrafzadeh M. WANDA: An end-to-end remote health monitoring and analytics system for heart failure patients. Proceedings of the Conference on Wireless Health. 2012. P. 11–19.
- Spaulding R. Kansas Care: e-Health Clinic Appointments Using iPad Minis between Multiple Professionals and Complex Patients in their Homes. *Am. Telemedicine Association.* 2012. URL: <http://www.americantelemed.org/about-telemedicine/telemedicine-case-studies/case-study-full-page/kansas-icare-mhealth-clinic-appointments-using-ipad-minis-between-multiple-professionals-and-complex-patients-in-their-homes#.VD98VnVILmi> (Available: 16.10.2014).
- Doherty S.T., Oh P. A multi-sensor monitoring system of human physiology and daily activities. *Telemedicine and e-Health.* 2012; 18 (3): 185–192.
- Lee Y.G., Jeong W.S., Yoon G. Smartphone-based mobile health monitoring. *Telemedicine and e-Health.* 2012; 18 (8): 585–590.

19. Nenov V., Klopp J. Remote analysis of physiological data from neurosurgical ICU patients. *J. Am. Med. Inform. Association.* 1996; 3 (5): 318–327.
20. Magrabi F., Lovell N.H., Huynh K., Celler B.G. Home telecare: system architecture to support chronic disease management. Engineering in Medicine and Biology Society. Proceedings of the 23<sup>rd</sup> Annual International Conference. *Amherst.* 2001. P. 3559–3562.
21. Mazzù M., Scalvini S., Giordano A., Frumento E., Wells H., Lokhorst K., Glisenti F. Wireless accessible sensor populations for monitoring biological variables. *J. Telemed. & Telecare.* 2008; 14 (3): 135–137.
22. Valero M.A., Vadillo L., Penalver A., Pau I. An implementation framework for smart home telecare services. *Future Generation Communication and Networking.* 2007; 2: 60–65.
23. Vavrinskya E., Teleka P., Donovalb M., Sladeka L., Daricekb M., Horineka F., Donovala D. Sensor system for wireless bio-signal monitoring. *Procedia Chemistry.* 2012; 6: 155–164.
24. Depari A., Flammioni A., Rinaldi S., Vezzoli A. A portable multi-sensor system for non-invasive measurement of biometrical data. *Procedia Engineering.* 2012; 47: 1323–1326.
25. Бокерия О.Л., Испириян А.Ю. Мониторинг хронической сердечной недостаточности на дому. *Анналы аритмологии.* 2012; 2: 14–22.
26. Juen J., Cheng Q., Prieto-Centurion V., Krishnan J., Schatz B. Health Monitors for Chronic Disease by Gait Analysis with Mobile Phones. *Telemedicine and e-Health.* 2014; 20 (14): 1035–1041.
27. Winters J., Wang Y. Wearable Sensors and Telerehabilitation. *Engineering Med. & Biol.* 2003; 3: 56–65.
28. Prado M., Roa L., Reina-Tosina J. Virtual Center for Renal Support: Technological Approach to Patient Physiological Image. *Transact. Biomed. Engineering.* 2002; 49 (12): 1420–1430.
29. Paradiso R., Loriga G., Taccini N. A Wearable Health Care System Based on Knitted Integrated Sensors. *Transact. Inform. Technol. Biomed.* 2005; 9 (3): 337–344.
30. Chan D., Howard M., Dolovich L., Bartlett G., Price D. Revolutionizing patient control of health information. *Canadian Family Physician.* 2013; 59 (8): 823–824.
31. Stead L.F., Perera R., Lancaster T. Telephone counselling for smoking cessation. *Cochr. Database Syst. Rev.* 2013; 8: 2850.
32. Casas A., Troosters T., Garcia-Aymerich J., Roca J., Hernández C., Alonso A., Pozo F., de Toledo P., Antó J.M., Rodríguez-Roisin R., Decramer M. Integrated care prevents hospitalisations for exacerbations in COPD patients. *Eur. Respir. J.* 2006; 28: 123–130.
33. Hernandez C., Casas A., Escarrabill J., Alonso J., Puig-Junoy J., Farrero E., Vilagut G., Collvinent B., Rodriguez-Roisin R., Roca J. Home hospitalisation of exacerbated chronic obstructive pulmonary disease patients. *Eur. Respir. J.* 2003; 21: 58–67.
34. Ascom telecare IP Decentralized Architecture and Decision Logic. Ascom Information Sheet. 2008. URL: [http://www.ascom.fr/fr/ascom\\_telecare\\_ip\\_insert\\_081209.pdf](http://www.ascom.fr/fr/ascom_telecare_ip_insert_081209.pdf) (Available: 16.10.2014).
35. Ohe K. A hospital information system based on Common object request broker architecture (CORBA) for exchanging distributed medical objects an approach to future environment of sharing healthcare information. *Studies Health Technol. Inform.* 1997; 52: 962–964.
36. Vázquez-Leal H., Castañeda-Sheissa R., Martínez-Campo R., Blázquez-Domínguez C., Hernández-Martínez L. Implementation of a large scale hospital information infrastructure for multi-unit health care services. *J. Telemed. Telecare.* 2008; 14 (3): 164–166.
37. Hsieh S.H., Hsieh S.L., Cheng P.H., Lai F. E-Health and healthcare enterprise information system leveraging service oriented architecture. *Telemed. & e-Health.* 2012; 18 (3): 205–212.
38. Yoo S., Kim B., Park H., Choi J., Chun J. Realization of real-time clinical data integration using advanced database technology. *AMIA Annu Symp Proc.* 2003. P. 738–742.
39. Tabak Y.P., Sun X., Nunez C.M., Johannes R.S. Using electronic health record data to develop inpatient mortality predictive model: Acute Laboratory Risk of Mortality Score (ALaRMS). *J. Am. Med. Inform. Association.* 2013; 21 (3): 455–463.
40. Dunn A.G., Ong M.S., Westbrook J.I., Magrabi F., Coiera E., Wobcke W. A simulation framework for mapping risks in clinical processes: the case of in-patient transfers. *J. Am. Med. Inform. Association.* 2011; 18 (3): 259–266.
41. Григорьев П.Е., Килесса, Г.В., Хорсева Н.И., Овсянникова Н.М. Информационно-программное обеспечение для комплексного мониторингования и экспресс-тестирования психофизиологического состояния человека. *Кибернетика и вычислительная техника.* 2012; 167: 75–86.
42. Rutledge C.M., Haney T., Bordelon M., Renaud M., Fowler C. Telehealth: preparing advanced practice nurses to address healthcare needs in rural and underserved populations. *Int. J. Nurs. Edu. Scholarsh.* 2014; 11 (1): 1–9.
43. Schlachta-Fairchild L., Varghese S., Deickman A. Telehealth and telenursing are live: APN policy and practice implications. *J. Nurse Practitioner.* 2010; 6: 98–106.
44. Roca J., Garasen H., Grismm A., Meya M., Alonso A., Gorman J., Burgos F., Hernández C., Barbera A., Cano I., Vontetsianos T., Milsis A., Vogiatzis G., Rovira J., Pellisé L., Ibern P., Garcia-Altés A., Codagnone Cristiano, Martinez-Roldan J. NEXES: supporting healthier and independent living for chronic patients and elderly. URL:[http://www.nexeshealth.eu/media/pdf/nexes\\_final\\_report.pdf](http://www.nexeshealth.eu/media/pdf/nexes_final_report.pdf) (Available: 16.10.2014).
45. Mallow J., Theeke L., Barnes E., Whetsel T., Mallow B. Using mHealth tools to improve rural diabetes care guided by the chronic care model. *Online J. Rural Nurs. Health Care.* 2014; 14: 43–65.
46. Leading Age CAST. Telehealth and Remote Patient Monitoring Provider Case Studies 2013. URL: [http://www.leadingage.org/uploadedFiles/Content/About/CAST/Resources/2013\\_CAST\\_Telehealth\\_and\\_Remote\\_Patient\\_Monitoring\\_\(RPM\)\\_Case\\_Studies.pdf](http://www.leadingage.org/uploadedFiles/Content/About/CAST/Resources/2013_CAST_Telehealth_and_Remote_Patient_Monitoring_(RPM)_Case_Studies.pdf) (Available: 16.10.2014).
47. Медархив. 2014. URL: <http://medarhiv.ru/> (дата обращения: 16.10.2014).
48. Система удаленного мониторинга. 2014. URL: <http://www.fobosmed.ru> (дата обращения: 16.10.2014).
49. Система удаленного мониторинга «Монитор здоровья». 2014. URL: <http://zdrav24.ru> (дата обращения: 16.10.2014).
50. Система удаленного мониторинга REMSMED. 2014. URL: <http://www.fors.ru> (дата обращения: 16.10.2014).

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна**, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора — директор НИИ ППиВЛ Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-14, e-mail: [namazova@nczd.ru](mailto:namazova@nczd.ru)

**Суворов Роман Евгеньевич**, аспирант лаборатории 0-2 «Динамические интеллектуальные системы» Института системного анализа РАН

Адрес: 117312, Москва, Проспект 60-летия Октября, д. 9, тел.: +7 (499) 135-90-20, e-mail: [rsuvorov@isa.ru](mailto:rsuvorov@isa.ru)



**Смирнов Иван Валентинович**, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории 0-2 «Динамические интеллектуальные системы» Института системного анализа РАН

**Адрес:** 117312, Москва, Проспект 60-летия Октября, д. 9, **тел.:** +7 (499) 135-90-20, **e-mail:** ivs@isa.ru

**Молодченков Алексей Игоревич**, инженер-исследователь лаборатории 0-2 «Динамические интеллектуальные системы» Института системного анализа РАН

**Адрес:** 117312, Москва, Проспект 60-летия Октября, д. 9, **тел.:** +7 (499) 135-73-10, **e-mail:** aim@isa.ru

**Антонова Елена Вадимовна**, доктор медицинских наук, заведующая отделом прогнозирования и планирования научных исследований Научного центра здоровья детей

**Адрес:** 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 967-15-66, **e-mail:** antonova@nczd.ru

**Вишнёва Елена Александровна**, кандидат медицинских наук, заведующая отделом стандартизации и клинической фармакологии Научного центра здоровья детей

**Адрес:** 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2, стр. 1, **тел.:** +7 (499) 134-03-92, **e-mail:** vishneva@nczd.ru

**Смирнов Владимир Иванович**, кандидат экономических наук, заместитель директора по информационным технологиям НИИ ППиВЛ Научного центра здоровья детей

**Адрес:** 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2, стр. 1, **тел.:** +7 (499) 134-23-96, **e-mail:** support@nczd.ru

Ю.С. Винник, С.С. Дунаевская, Д.А. Антюфриева

Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Российская Федерация

## Диагностическая ценность интегральных шкал в оценке степени тяжести острого панкреатита и состояния больного

**Цель исследования:** оценить диагностическую ценность специфических и неспецифических шкал Толстого–Красногорова, Ranson, BISAP, Glasgow, MODS 2, APACHE II и CTSI, используемых в urgentной панкреатологии для оценки тяжести острого панкреатита и состояния больного. **Методы:** проанализировано 1550 историй болезней пациентов, находившихся на стационарном хирургическом лечении в Дорожной клинической больнице на станции Красноярск за период 2009–2013 гг. Диагноз тяжелого острого панкреатита и его осложнений устанавливали на основании данных анамнеза, объективных обследований, клинико-лабораторных показателей, ультразвукового исследования и компьютерной томографической ангиографии. Для оценки степени тяжести острого панкреатита и общего состояния пациента использовали специфические и неспецифические шкалы. Эффективность используемых шкал определяли по следующим параметрам: точность, чувствительность (Se), специфичность (Sp), прогностическая значимость положительного (PPV) и отрицательного результатов (NPV). **Результаты:** для оценки тяжести острого панкреатита наиболее ценная шкала BISAP (Se — 98,10%), для оценки признаков органной недостаточности — MODS 2 (Sp — 100%, PPV — 100%) и APACHE II (Sp — 100%, PPV — 100%), для определения признаков панкреонекроза — CTSI (Sp — 100%, NPV — 100%), потребности в интенсивной терапии — MODS 2 (Sp — 100%, PPV — 100%, NPV — 96,29%) и APACHE II (Sp — 100%, PPV — 100%, NPV — 97,21%), для прогнозирования летальности — MODS 2 (Se — 100%, Sp — 98,14%, NPV — 100%) и APACHE II (Se — 95,00%, NPV — 99,86%). **Заключение:** к наиболее эффективным шкалам, позволяющим оценить степень тяжести острого панкреатита, можно отнести шкалы Толстого–Красногорова, Ranson, Glasgow и BISAP. Высокая специфичность и прогностическая значимость положительного результата для шкал MODS 2, APACHE II позволяет их использовать в клинической практике. **Ключевые слова:** тяжелый острый панкреатит, интегральные шкалы, оценка тяжести острого панкреатита. (Вестник РАМН. 2015; 1: 90–94)

90

### Обоснование

Острый панкреатит (ОП) — актуальная проблема urgentной хирургии, что связано с его лидирующим местом в структуре неотложной абдоминальной патологии и увеличением доли тяжелых форм ОП. К причинам неблагоприятного течения заболевания относятся запоздалую диагностику тяжелого ОП и его осложнений; отсутствие высокоэффективной шкалы оценки тяжести и прогноза болезни; выполнение необоснованных хирургических манипуляций [1].

Ранний тяжелый ОП имеет фульминантное течение, сопровождающееся прогрессирующей органной дис-

функцией, гипоксией, формированием очагов панкреонекроза, присоединением инфекционного процесса и абдоминального компартмент-синдрома. Профилактика и лечение органных нарушений — стратегическое направление лечения больных тяжелым ОП. На данном этапе весьма важна скрининг–диагностика тяжелого ОП и его осложнений с использованием интегральных шкал разной направленности [2, 3].

Своевременная диагностика тяжелого ОП представляет значительные трудности, при этом частота диагностических ошибок достигает 30% [4]. В настоящее время существует более 200 различных лабораторных и инструментальных шкал для оценки степени тяжести и прогно-

Y.S. Vinnik, S.S. Dunaevskaya, D.A. Antufrieva

V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Russian Federation

## Diagnostic Value of Integral Scoring Systems in Assessing the Severity of Acute Pancreatitis and Patient's Condition

**Objective:** The aim of the study was to evaluate the diagnostic value of specific and nonspecific scoring systems Tolstoy–Krasnogorov score, Ranson, BISAP, Glasgow, MODS 2, APACHE II and CTSI, which used at urgent pancreatology for estimation the severity of acute pancreatitis and status of patient. **Methods:** 1550 case reports of patients which had inpatient surgical treatment at Road clinical hospital at the station Krasnoyarsk from 2009 till 2013 were analyzed. Diagnosis of severe acute pancreatitis and its complications were determined based on anamnestic data, physical examination, clinical indexes, ultrasonic examination and computed tomography angiography. Specific and nonspecific scores (scoring system of estimation by Tolstoy–Krasnogorov, Ranson, Glasgow, BISAP, MODS 2, APACHE II, CTSI) were used for estimation the severity of acute pancreatitis and patient's general condition. Effectiveness of these scoring systems was determined based on some parameters: accuracy (Ac), sensitivity (Se), specificity (Sp), positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV). **Results:** Most valuable score for estimation of acute pancreatitis's severity is BISAP (Se — 98,10%), for estimation of organ failure — MODS 2 (Sp — 100%, PPV — 100%) and APACHE II (Sp — 100%, PPV — 100%), for detection of pancreatonecrosis sings — CTSI (Sp — 100%, NPV — 100%), for estimation of need for intensive care — MODS 2 (Sp — 100%, PPV — 100%, NPV — 96,29%) and APACHE II (Sp — 100%, PPV — 100%, NPV — 97,21%), for prediction of lethality — MODS 2 (Se — 100%, Sp — 98,14%, NPV — 100%) and APACHE II (Se — 95,00%, NPV — 99,86%). **Conclusion:** Most effective scores for estimation of acute pancreatitis's severity are Score of estimation by Tolstoy–Krasnogorov, Ranson, Glasgow and BISAP. Scoring systems MODS 2, APACHE II high specificity and positive predictive value allow using it at clinical practice.

**Key words:** severe acute pancreatitis, integral score, estimation the severity of acute pancreatitis.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 90–94)

зирования течения ОП. Интегральные шкалы оценки тяжести ОП обеспечивают высокую точность только через 48 ч от начала заболевания [5, 6].

Среди специфичных шкал ранней диагностики и прогнозирования тяжелого острого панкреатита выделяют следующие: Толстого–Красногорова, Ranson, BISAP. Шкала Толстого–Красногорова разработана в панкреоцентре НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе и принята Ассоциацией хирургов Санкт-Петербурга в 2004 г. [7]. Данная классификация основана на тесной связи тяжести заболевания с его морфологическими проявлениями и учитывает фазовое течение острого деструктивного панкреатита. Шкала Ranson была разработана J.H.C. Ranson в 1974 г. и включает 11 прогностических признаков. Пять признаков необходимо регистрировать при поступлении, остальные шесть — через 48 ч после поступления [7]. В последние годы для простоты применения в практику была внедрена шкала BISAP (The Bedside Index for Severity in Acute Pancreatitis). Индекс шкалы BISAP рассчитывают как сумму признаков, обнаруженных в течение 24 ч: концентрация мочевины в крови больше 25 мг/л, наличие изменений ментального статуса, признаков системного воспалительного ответа и выпота в плевральной полости, возраст более 60 лет [8].

Степень тяжести острого панкреатита определяют по многопараметрическим диагностическим системам: APACHE-II, MODS 2 и Glasgow. Шкала APACHE, предложенная W. Knaus и соавт. в 1981 г., включает в себя оценку физиологических параметров и преморбидного состояния здоровья пациента. В 1985 г. ими же была разработана упрощенная система APACHE II, включающая в себя меньшее число критериев [7]. Оценку нарушения сознания оценивают по шкале Glasgow, а развитие полиорганной недостаточности — по шкале MODS 2 [8].

Морфологическую степень тяжести ОП можно оценить с использованием компьютерного томографического индекса (CT Severity INDEX, CTSI), для расчета которого баллы степени поражения поджелудочной железы по шкале Balthazar суммируют с баллами степени некроза [9].

К настоящему моменту проблема раннего прогнозирования тяжелого ОП не решена, поэтому поиск новых критериев неблагоприятного развития заболевания продолжает оставаться актуальным. В связи с этим целью нашего исследования была оценка диагностической значимости специфических и неспецифических шкал Толстого–Красногорова, Ranson, BISAP, Glasgow, MODS 2, APACHE II и CTSI, используемых в ургентной панкреатологии для оценки тяжести ОП и состояния больного.

## Методы

### Дизайн исследования

Данное исследование относится к группе проспективных когортных исследований с повторной ретроспективной оценкой по завершеному клиническому случаю.

### Критерии соответствия

Наблюдаемую группу больных составляли пациенты обоего пола в возрасте от 18 до 80 лет, поступившие в стационар по скорой неотложной помощи с диагнозом «Острый панкреатит» в ферментативную фазу заболевания. В исследование не включали пациентов, имевших тяжелую сопутствующую сердечно-сосудистую патологию, сердечную недостаточность ПА стадии и выше, 2-й и выше функциональный класс по классификации

Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (НУНА), беременность. Критерии исключения из исследования: отказ пациента от участия в исследовании.

### Условия проведения

Исследование проводили на базе I хирургического отделения Дорожной клинической больницы на станции Красноярск ОАО «Российские железные дороги», осуществляющей оказание неотложной хирургической помощи населению.

### Продолжительность исследования

Проспективное исследование проводили в период 2009–2013 гг. Повторное ретроспективное исследование с оценкой по законченному клиническому случаю осуществляли в 2014 г.

### Описание медицинского вмешательства

При поступлении пациента в приемном покое производили оценку тяжести ОП по шкале Толстого–Красногорова. В первые 24 ч оценивали показатели по шкалам BISAP, APACHE II, MODS 2. В период 24 и 48 ч оценивали показатели шкал Ranson и Glasgow. На 3-и сут выполняли компьютерную томографическую ангиографию органов брюшной полости с болюсным контрастированием, по результатам которой рассчитывали баллы CTSI. Все пациенты получали стандартную терапию в соответствии с протоколами диагностики и лечения острого панкреатита [10].

## Исходы исследования

### Основной исход исследования

Из 1550 человек, на долю пациентов с тяжелым ОП приходилось 13,6% случаев. Общая летальность при ОП составила 2,58%, из них среди пациентов с тяжелым ОП — 18,96%, среди больных, требующих неотложной терапии, — 32,52%, среди пациентов с проявлениями органной недостаточности — 27,03%.

### Дополнительные исходы исследования

В наблюдаемой нами группе больных были прослежены некоторые асептические осложнения ферментативной фазы острого панкреатита.

### Анализ в подгруппах

При определении степени тяжести острого панкреатита, прогнозировании развития полиорганной недостаточности и парапанкреатических осложнений применяли следующие многофакторные шкалы: 1) шкала Красногорова–Толстого — критическими точками были 4 балла и более (2 основных критерия или 1 основной критерий и 2 дополнительных); 2) шкала Ranson с критической точкой 3 балла и более; 3) шкала Glasgow — критическая точка 3 балла и более; 4) шкала BISAP — критическая точка 3 балла и более; 5) шкала MODS 2 — критическая точка 9 баллов и более; 6) шкала APACHE II — критическая точка 8 баллов и более; 7) шкала CTSI — критическая точка 7 баллов и более.

### Методы регистрации исходов

При завершении исследования и экспертной оценки тяжелый ОП диагностировали согласно определению Атлантской классификации [11]. Признаки полиорганной недостаточности устанавливали согласно рекомендациям Всемирной федерации обществ анестезиологов [10].

Признаки панкреонекроза оценивали по данным компьютерной томографической ангиографии с болюсным контрастированием на 3-и сут от начала заболевания и при необходимости уточнения характера парапанкреатических осложнений повторяли исследование на 10–14-е сут [11]. Потребность в интенсивной терапии рассматривали по фактическому пребыванию пациента в отделении реанимации и интенсивной терапии; кроме того, рассчитывали летальность.

**Этическая экспертиза**

Проведение исследования одобрено на заседании локального этического комитета КрасГМУ 28.10.2013 г. (выписка из протокола № 51/2013).

**Статистический анализ**

Расчет объема выборки предварительно не проводили. Статистический анализ данных выполнен при помощи пакета прикладных программ MS Excel 10.0 (США) и SPSS 17.0. (SPSS Inc., США). Данные описательной статистики представлены в виде медианы и доверительного интервала (ДИ). Основные характеристики исследуемых шкал приведены в абсолютных цифрах и процентных соотношениях. Оценку эффективности шкал проводили с применением стандартных методов диагностической ценности, таких как точность (Ac), чувствительность (Se), специфичность (Sp), прогностическая значимость положительного (PPV) и отрицательного (NPV) результатов.

**Результаты**

**Участники исследования**

Проведено проспективное исследование 1550 пациентов с ОП, находившихся на стационарном хирургическом лечении в Дорожной клинической больнице на станции Красноярск ОАО «Российские железные дороги» в период 2009–2013 гг. Возраст больных составил от 18 до 80 лет, средний возраст — 48 лет (95% ДИ 44,9–51,6), мужчин было 859 (55,4%), женщин — 691 (44,6%).

Согласно этиологической классификации ОП Н.А. Яицкого и соавт. (табл. 1) [12], токсико-аллергический генез заболевания выявлен в 54% (алкогольный — 48%, алиментарный — 6%), билиарный — в 38% (дуктогенный — 17%, холецистогенный — 21%), другой генез — в 8% (гастрогенный, ангиогенный, посттравматический, криптогенный).

**Основные результаты исследования**

К наиболее эффективным шкалам, позволяющим оценить тяжесть ОП, относят шкалы Толстого–Красногорова, Ranson, Glasgow и BISAP. Наиболее высокой

диагностической ценностью обладает шкала BISAP (Se — 98,10%, Sp — 99,85%, PPV — 99,04%, NPV — 99,70), низкая ценность у шкалы MODS 2 (Se — 32,23%) и APACHE II (Se — 37,44%). Для оценки признаков органной недостаточности эффективны шкалы MODS 2 (Sp — 100%, PPV — 100%) и APACHE II (Sp — 100%, PPV — 100%). Для определения признаков панкреонекроза, оценки площади некротического субстрата и вовлечения парапанкреатических структур — шкала CTSI (Sp — 100%, NPV — 100%). Прогнозирование потребности в интенсивной терапии эффективно при использовании шкал MODS 2 (Sp — 100%, PPV — 100%, NPV — 96,29%) и APACHE II (Sp — 100%, PPV — 100%, NPV — 97,21%). Для прогнозирования летальности также целесообразно применять шкалы MODS 2 (Se — 100%, Sp — 98,14%, NPV — 100%) и APACHE II (Se — 95,00%, NPV — 99,86%). Все полученные данные представлены в табл. 2.

**Дополнительные результаты исследования**

Асептические осложнения ферментативной фазы были отмечены у 282 (18,19%) пациентов с тяжелым ОП. Острые жидкостные скопления наблюдали у 210 (13,55%) больных: в сальниковой сумке — у 146 (9,42%), в забрюшинной клетчатке — у 92 (5,94%), в свободной брюшной полости — у 77 (4,97%).

Осложнения какого-либо одного типа зарегистрированы у 175 (11,29%), осложнения двух типов — у 78 (5,03%), трех типов — у 29 (1,87%) больных. Таким образом, в 6,9% случаев приходилось иметь дело с двумя и более типами осложнений у одного пациента, которые развивались одновременно или последовательно и, как правило, свидетельствовали о тяжелом ОП.

Полиорганная недостаточность была выявлена у 37 (2,97%), панкреатогенный шок — у 37 (2,26%) обследованных пациентов.

**Нежелательные явления**

В ходе исследования нежелательных явлений не отмечено.

**Обсуждение**

При оценке степени тяжести ОП необходимо применение многофакторных специфических шкал. Шкала Толстого–Красногорова позволяет оценить тяжесть ОП на этапе поступления больного в хирургический стационар и определить тактику ведения пациента. Использование шкалы для оценки общего состояния здоровья, объема панкреонекроза имеет низкую диагностическую ценность [4]. При применении шкалы Ranson результаты будут получены только через 48 ч, что следует отнести

92

**Таблица 1.** Распределение пациентов с острым панкреатитом по этиологии заболевания (n =1550)

| Этиология острого панкреатита по Н.А. Яицкому и соавт.  | Число пациентов                               |
|---|---|
| Токсико-аллергический генез, в т.ч.:<br>— алкогольный;<br>— алиментарный  | 837 (54%), в т.ч.:<br>744 (48%);<br>93 (6%)   |
| Билиарный генез, в т.ч.:<br>— дуктогенный;<br>— холецистогенный   | 589 (38%), в т.ч.:<br>263 (17%);<br>326 (21%) |
| Другой генез:<br>— гастрогенный (гастродуоденальные язвы с пенетрацией в поджелудочную железу)<br>— ангиогенный<br>— посттравматический<br>— криптогенный | 124 (8%)                                      |

Таблица 2. Диагностическая ценность интегральных шкал при оценке степени тяжести острого панкреатита и состояния больного, %

| Шкала                                    | Se    | Sp    | Ac    | PPV   | NPV   |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>Тяжелый острый панкреатит</b>         |       |       |       |       |       |
| Шкала оценки Толстого–Красногорова       | 90,99 | 99,55 | 98,39 | 96,97 | 98,59 |
| Шкала Ranson                             | 94,31 | 99,85 | 99,10 | 99,00 | 99,11 |
| Шкала Glasgow                            | 95,26 | 99,85 | 99,23 | 99,01 | 99,26 |
| BISAP                                    | 98,10 | 99,85 | 99,61 | 99,04 | 99,70 |
| MODS 2                                   | 32,23 | 100   | 90,77 | 100   | 90,35 |
| APACHE II                                | 37,44 | 99,78 | 91,29 | 96,34 | 91,01 |
| CTSI                                     | 70,37 | 100   | 83,83 | 100   | 73,77 |
| <b>Признаки органной недостаточности</b> |       |       |       |       |       |
| Шкала оценки Толстого–Красногорова       | 83,11 | 94,65 | 93,55 | 62,12 | 98,15 |
| Шкала Ranson                             | 81,08 | 94,22 | 92,97 | 59,70 | 97,92 |
| Шкала Glasgow                            | 85,14 | 94,51 | 93,61 | 62,07 | 98,37 |
| BISAP                                    | 89,19 | 94,51 | 94,00 | 63,15 | 98,81 |
| MODS 2                                   | 43,59 | 100   | 94,32 | 100   | 94,06 |
| APACHE II                                | 55,41 | 100   | 95,74 | 100   | 95,50 |
| CTSI                                     | 72,85 | 92,35 | 83,16 | 89,47 | 79,23 |
| <b>Признаки панкреонекроза</b>           |       |       |       |       |       |
| Шкала оценки Толстого–Красногорова       | 92,63 | 98,38 | 97,68 | 88,89 | 98,96 |
| Шкала Ranson                             | 95,79 | 98,60 | 98,26 | 90,55 | 99,41 |
| Шкала Glasgow                            | 96,32 | 98,53 | 98,26 | 90,15 | 99,48 |
| BISAP                                    | 97,37 | 98,24 | 98,13 | 88,52 | 99,63 |
| MODS 2                                   | 28,42 | 98,97 | 90,32 | 79,41 | 90,82 |
| APACHE II                                | 27,37 | 97,79 | 89,16 | 63,41 | 90,60 |
| CTSI                                     | 60,00 | 100   | 74,41 | 100   | 58,46 |
| <b>Потребность в интенсивной терапии</b> |       |       |       |       |       |
| Шкала оценки Толстого–Красногорова       | 97,56 | 94,53 | 94,78 | 60,61 | 99,78 |
| Шкала Ranson                             | 95,93 | 94,18 | 94,32 | 58,71 | 99,63 |
| Шкала Glasgow                            | 94,31 | 93,90 | 93,94 | 57,14 | 99,48 |
| BISAP                                    | 95,12 | 93,55 | 93,67 | 55,98 | 99,55 |
| MODS 2                                   | 55,28 | 100   | 96,45 | 100   | 96,29 |
| APACHE II                                | 66,67 | 100   | 97,35 | 100   | 97,21 |
| CTSI                                     | 78,86 | 90,23 | 85,52 | 85,09 | 85,79 |
| <b>Прогнозируемая летальность</b>        |       |       |       |       |       |
| Шкала оценки Толстого–Красногорова       | 75,00 | 88,88 | 88,52 | 15,15 | 99,26 |
| Шкала Ranson                             | 67,50 | 88,48 | 87,94 | 13,43 | 99,04 |
| Шкала Glasgow                            | 72,50 | 88,48 | 88,06 | 14,28 | 99,18 |
| BISAP                                    | 80,0  | 88,28 | 88,06 | 15,31 | 99,40 |
| MODS 2                                   | 100   | 98,14 | 98,19 | 58,82 | 100   |
| APACHE II                                | 95,00 | 97,09 | 97,03 | 46,34 | 99,86 |
| CTSI                                     | 88,89 | 68,58 | 71,04 | 28,07 | 97,81 |

Примечание. Se — чувствительность; Sp — специфичность; Ac — точность; PPV — прогностическая значимость положительного результата; NPV — прогностическая значимость отрицательного результата.

существенному недостатку [2]. Шкалы общереаниматологического профиля (APACHE-II, MODS 2 и Glasgow) позволяют прогнозировать развитие полиорганной недостаточности и необходимости нахождения больного в отделении реанимации и интенсивной терапии с высокой диагностической ценностью. Использование шкал в оценке тяжести острого панкреатита имеет низкую чувствительность и специфичность [7]. Оценить объем и глубину некроза поджелудочной железы, а также развитие парапанкреатических осложнений возможно при использовании шкалы CTSI.

Для таких показателей, как признаки органной недостаточности, потребность в интенсивной терапии и прогнозирование летальности, наибольшую диагностическую ценность имели неспецифические шкалы, применяемые для оценки тяжести состояния и обоснования госпитализации в отделение реанимации и интенсивной терапии. Для оценки тяжести острого панкреатита информативны специфические шкалы, из которых CTSI

обладала наибольшей чувствительностью и специфичностью. Целесообразно применять различные шкалы на разных этапах пребывания больного в хирургическом стационаре. Так, шкала Толстого–Красногорова сохраняет актуальность для оценки тяжести острого панкреатита на этапе поступления больного в стационар. Шкалы Ranson, Glasgow и BISAP не имеют значимых различий по диагностической ценности и могут успешно применяться для оценки тяжести панкреатита в условиях специализированного хирургического отделения.

#### Ограничения исследования

Применение данного исследования может быть ограничено диагностическими возможностями стационара, необходимо строгое соблюдение сроков выполнения диагностических процедур и расчета показателей. Результаты исследования обусловлены течением основного заболевания и не могут быть применены в отношении пациентов, имеющих тяжелые декомпенсированные сопутствующие заболевания.

### Краткие практические рекомендации

На этапе приемного покоя в качестве скринингового метода может быть использована шкала Толстого–Красногорова. В 1-е сут необходимо применение одной из неспецифических анестезиологических шкал и решение вопроса о необходимости госпитализации в отделение реанимации и интенсивной терапии. В 1-е сут и через 48 ч необходимо оценить показатели специфической шкалы Ranson. Для уточнения объема панкреонекроза и парапанкреатических осложнений рекомендовано проведение КТ-ангиографии с болюсным контрастированием.

### Заключение

Для объективной оценки и принятия решения по хирургической тактике необходим комплексный подход с

использованием специфических и неспецифических шкал в сочетании с современными методами визуализации.

### Конфликт интересов

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

### Выражение признательности

Авторы выражают признательность руководству Дорожной клинической больницы на станции Красноярск ОАО «Российские железные дороги» за возможность проведения клинического исследования.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Винник Ю.С., Булыгин Г.В., Дунаевская С.С. Эффективность применения глутоксима в комплексном лечении больных острым панкреатитом. *Сибирское медицинское обозрение*. 2002; 22 (2): 29–32.
2. Al Mofleh I.A. Severe acute pancreatitis: pathogenetic aspects and prognostic factors. *World J. Gastroenterol.* 2008; 14 (5): 675–684.
3. Калиев А.А., Жакиев Б.С., Елеуов Г.А., Конакбаева Н.К. Использование озонотерапии и малых доз постоянного электрического тока в комплексном лечении стерильного панкреонекроза. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2014; 1–2: 16–18.
4. Фомин А.В., Гидранович А.В. Оценка тяжести состояния больных острым панкреатитом (обзор литературы). *Вестник ВГМУ*. 2004; 1: 41–50.
5. Дунаевская С.С., Антоффриева Д.А. Прогнозирование возможного исхода при тяжелом остром панкреатите. *Врач-аспирант*. 2013; 56 (1.1): 203–207.
6. Багненко С.Ф., Толстой А.Д., Красногоров В.Б., Курьин А.А., Гринёв М.В., Лапшин В.Н., Гольцов В.Р. Острый панкреатит (Протоколы диагностики и лечения). *Анналы хирургической гепатологии*. 2006; 11 (1): 60–66.
7. Papachistou G.I., Muddana V., Yadav Dh. Comparison of BISAP, Ranson's, APACHE-II, and CTSI scores in predictin organ failure, complications, and mortality in acute pancreatitis. *Am. J. Gastroenterol.* 2010; 105: 435–441.
8. Balthazar E.J., Ranson J.H., Naidich D.P., Megibow A.J., Caccavale R., Cooper M.M. Acute pancreatitis: prognostic value of CT. *Radiology*. 1985; 156 (3): 767–772.
9. Синенченко Г.И., Пивоварова Л.П., Шилиев А.В., Двойнов В.Г. Прогностические критерии тяжести острого деструктивного панкреатита. *Вестник российской военно-медицинской академии*. 2007; 1 (17): 100–105.
10. Основы интенсивной терапии (Руководство Всемирной федерации обществ анестезиологов). Под ред. Б. Маккормик. *Архангельск: СГМУ*. 2014. 464 с.
11. Working Group IAP/APA Acute Pancreatitis Guidelines; Besselink M., van Santvoort H., Freeman M., Gardner T., Mayerle J., Vege S.S. IAP/APA evidence-based guidelines for the management of acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2013; 13: 1–15.
12. Яицкий Н.А., Седов В.М., Сопия Р.А. Острый панкреатит. *М.: МЕДпресс-информ*. 2003. 224 с.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Винник Юрий Семёнович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого  
**Адрес:** 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** +7 (391) 248-79-71, **e-mail:** yuvinnik@yandex.ru  
**Дунаевская Светлана Сергеевна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей хирургии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого  
**Адрес:** 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** +7 (391) 248-79-71, **e-mail:** vikto-potapenk@yandex.ru  
**Антоффриева Дарья Александровна**, аспирант кафедры общей хирургии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого  
**Адрес:** 660022, Красноярск, Советский район, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** +7 (391) 248-79-71, **e-mail:** silentium-fox@mail.ru

Г.М. Волгарева

Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина, Москва

## Рак предстательной железы: возможная роль папилломавирусов в его возникновении

*Заболеемость раком предстательной железы (РПЖ) и смертность от него неуклонно возрастают. Этиология этой формы рака изучена недостаточно. Неясна, в частности, роль вирусов папиллом человека (ВПЧ). Обзор содержит анализ данных литературы о возможном участии ВПЧ, сильных биологических канцерогенов, в возникновении РПЖ. Рост заболеемости РПЖ на фоне иммунодефицитов — это указание на причастность инфекционного агента к этиологии данного заболеевания. Несколько исследовательских групп сообщали об обнаружении ДНК ВПЧ, в т.ч. онкогенных типов, в образцах РПЖ, полученных методом трансректальной биопсии. Имеются ограниченные данные о присутствии онкобелка E7 онкогенного ВПЧ 16-го типа в клетках хирургически удаленного РПЖ и его неблагоприятном влиянии на прогноз заболеевания. Известна успешная попытка трансформации нормальных клеток предстательной железы человека с помощью ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска in vitro. Эпидемиологические данные об ассоциациях РПЖ с ВПЧ противоречивы. Причиной могут быть рассмотренные в настоящем обзоре методические особенности этих работ. В то же время проверку наличия в сыворотке крови антител к онкобелкам E6 и E7 ВПЧ, признанных индикаторами развития в организме ВПЧ-положительной опухоли, у больных РПЖ до настоящего времени не проводили. ДНК онкогенных ВПЧ достаточно часто обнаруживают в соседних с предстательной железой органах — мочеиспускательном канале, прямой кишке, мочевом пузыре. Работа, проведенная в России на группе мужчин, проходивших обследование на заболеевания, передаваемые половым путем, выявила ВПЧ-инфекцию в мочеполовой сфере у каждого второго здорового мужчины; у 42% из них были обнаружены онкогенные ВПЧ. В связи с этим возможность участия онкогенных ВПЧ в развитии РПЖ заслуживает пристального внимания и дальнейшего изучения.*

**Ключевые слова:** предстательная железа, рак, вирусы папиллом человека.  
(Вестник РАМН. 2015; 1: 95–100)

95

### Введение

Рак предстательной железы (РПЖ) занимает второе место в мировой структуре онкологической заболееваемости мужчин и шестое — в структуре смертности мужчин от онкопатологии. В большинстве стран, где проводят регистрацию заболееваемости РПЖ и смертности от этой формы рака, данные показатели в последние годы возрастают [1]. Так, в США на долю РПЖ приходится 28% всех вновь обнаруженных онкологических заболееваний мужчин; в возрастной группе старше 60 лет РПЖ — третья по уровню смертности мужчин форма рака (после бронхолегочного рака и рака толстой и прямой кишки) [2]. Исследователи предполагают, что к 2030 г. число новых

случаев заболееваемости РПЖ в мире составит 1,7 млн, а число смертельных исходов этого заболеевания — около 0,5 млн [3].

Заболееваемость РПЖ в разных странах варьирует в широких пределах, что обусловлено как генетическими факторами, так и различиями в образе жизни населения и принципах диагностики и лечения заболеевания. Этиология РПЖ изучена недостаточно, но установлены три фактора риска развития этой патологии: пожилой возраст, принадлежность к негроидной расе, наличие в семье случаев РПЖ [1, 4].

В России заболееваемость РПЖ ниже, чем в большинстве стран Европы, но выше, чем в странах Восточной Азии [4]. В период 2002–2012 гг. заболееваемость РПЖ

G.M. Volgareva

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Centre, Moscow, Russian Federation

## Prostate Cancer: Papillomaviruses as a Possible Cause

*Prostate cancer (PC) incidence and mortality are steadily increasing. Causation of PC is not clearly understood; in particular, role of human papillomaviruses (HPV) is still disputable. The review contains analysis of literature data on possible participation of HPV, powerful biological carcinogens, in PC genesis. PC incidence increase in persons with immunodeficiency indicates involvement of some infectious agent in the disease etiology. Several research groups communicated HPV DNA finding including that of oncogenic types in PC specimens (transrectal biopsies). There are limited data on the occurrence of oncogenic HPV 16 oncoprotein E7 in such specimens and on its unfavorable effect on disease prognosis. The successful attempt is known to transfect normal human prostate cells with oncogenic HPV DNA in vitro. Epidemiological data on associations of PC with HPV are controversial. It may result from the considered in the present review certain technical peculiarities of these studies. Control for serum antibodies to HPV E6 and E7 oncoproteins recognized to indicate HPV-positive tumor growth in an organism has not been performed yet in PC patients. DNA of oncogenic HPV is rather commonly found in organs adjacent to prostate — urethra, rectum, urinary bladder. In the study held in Russia on a group of healthy men examined for sexually transmitted diseases genitourinary HPV infection was found in every second person; 42% of them harbored oncogenic HPV. Possible participation of oncogenic HPV in PC genesis deserves close attention and further study.*

**Key words:** prostate, cancer, papillomaviruses.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 95–100)

в России неуклонно возрастала: среднегодовой темп прироста стандартизованного показателя на 100 000 населения составил 7,8%. Стандартизованный показатель смертности от РПЖ за этот период вырос на 35,2%, что особенно значимо на фоне общего снижения стандартизованного показателя смертности мужчин от всех злокачественных новообразований за тот же период (-10,5%) [5].

### Исследования роли инфекционных агентов в возникновении РПЖ

Изучением роли инфекционных агентов в этиологии РПЖ исследователи занимаются в течение долгого времени. Традиционными в этой связи стали иммунологические и молекулярно-генетические тесты на выявление таких вирусов, как вирусы папилломы человека (ВПЧ) нескольких типов, вирусы простого герпеса 1-го и 2-го типов, цитомегаловирус человека, а также ряда микроорганизмов: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Neisseria gonorrhoea*, *Treponema pallidum*, *Trichomonas vaginalis*, *Escherichia coli*. Связь между конкретным инфекционным агентом и риском РПЖ при этом чаще всего не обнаруживают, поэтому однозначный вывод о роли инфекции в генезе РПЖ пока не сделан [6].

96

В приведенном перечне ВПЧ занимают особое место, поскольку некоторые из них (типы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и 59), относящиеся к вирусам высокого онкогенного риска, канцерогенны для человека: они вызывают рак шейки матки (РШМ), а также некоторые другие формы аногенитального рака, рака головы и шеи [7, 8]. Онкобелки Е6 и Е7 ВПЧ высокого риска взаимодействуют со многими белками зараженной клетки, нарушая их функционирование; главными среди этих эффектов принято считать инактивацию супрессоров опухолевого роста pRb и p53 [7, 9].

Возможную связь между РПЖ и ВПЧ обсуждают в научной литературе уже длительное время. Первые результаты были рассмотрены в нескольких обзорах, авторы которых отметили их противоречивость [10–12]. Целью настоящей работы стал анализ данных литературы последних лет о возможной роли ВПЧ в возникновении этой формы рака. Поскольку заболеваемость РПЖ в разных регионах мира значительно колеблется, мы далее упоминаем географическое происхождение публикаций.

### РПЖ у лиц с иммунодефицитами

Аргументом в пользу участия инфекционного агента в возникновении злокачественного новообразования нередко служат данные об увеличении частоты развития этой патологии у лиц с иммунодефицитами — носителей вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), а также у пациентов, получавших иммуносупрессирующие препараты в связи с проведенной трансплантацией какого-либо органа. На возможную роль биологических факторов в возникновении РПЖ указывает факт двукратного учащения данной формы рака у лиц, которым была трансплантирована почка, по сравнению со среднепопуляционным показателем. При этом частота РШМ у женщин-реципиентов почки превысила среднепопуляционную в пять раз [13].

Итоги метаанализа данных литературы о частоте развития РПЖ у ВИЧ-инфицированных индивидуумов и у лиц с пересаженными органами, проведенного A. Grulich и соавт., также не исключают возможности участия инфекционных агентов в возникновении РПЖ [14].

Однако в более поздних работах, выполненных в Великобритании и США, повышения риска возникновения РПЖ после трансплантации органов выявлено не было [15, 16]. Одной из причин этого, возможно, стал недостаточный срок наблюдения за пациентами после проведения трансплантации — в некоторых случаях он не превышал трех лет. В пользу данной гипотезы свидетельствует отсутствие повышения или увеличение всего лишь в два раза риска РШМ среди параллельно наблюдавшихся женщин с пересаженными органами [15, 16].

### Результаты детекции ДНК ВПЧ в образцах РПЖ

Два исследовательских коллектива из Латинской Америки сообщили о том, что в значительной части случаев РПЖ опухолевые клетки ДНК ВПЧ-позитивны [17, 18]. Группа авторов из Аргентины представила результаты детекции ВПЧ в образцах гиперплазий и аденокарцином предстательной железы (метод трансректальной биопсии) [17]. ВПЧ-положительными по результатам полимеразной цепной реакции (ПЦР) и гибридизации по Саузерну оказались 17 из 41 (41,5%) образцов РПЖ, тогда как все 30 исследованных образцов гиперплазий были ВПЧ-отрицательными. В 5 образцах РПЖ присутствовал ВПЧ типа 16, в 2 — ВПЧ типа 11 (его относят к группе ВПЧ низкого онкогенного риска), в остальных 10 ВПЧ-положительных образцах тип вируса определен не был. Обнаружение в части образцов РПЖ ВПЧ типа 16, основного типа вируса, ответственного за возникновение РШМ, авторы расценивают как свидетельство причастности ВПЧ к генезу РПЖ. Ответа на вопрос о путях проникновения ВПЧ в предстательную железу исследователи не дают, отмечая, что различие между ВПЧ-статусом гиперплазий и РПЖ не оказалось бы столь резким, если бы вирусы попадали в простату из соседних органов, где их нередко выявляют (уретра, прямая кишка, мочевого пузыря) [19–21].

В свою очередь, исследователи из Мексики, используя ПЦР, провели сравнение частоты ВПЧ-позитивности в 55 образцах от больных РПЖ, полученных методом трансректальной биопсии, и 75 биопсиях, полученных методом трансуретральной резекции от лиц, вошедших в контрольную группу (пациенты с хроническим простатитом, гиперплазией или атрофическими изменениями ткани предстательной железы). ДНК ВПЧ была обнаружена в 11 образцах РПЖ (20%) и 4 образцах контрольной группы (5,3%). Тип вируса удалось определить в 6 случаях (5 образцов РПЖ и 1 контрольный), при этом в 3 из них обнаружено одновременное наличие нескольких типов ВПЧ. ВПЧ высокого онкогенного риска присутствовали в 4 из 5 образцов РПЖ, а также в контрольном. Присутствие генома ВПЧ в клетках предстательной железы повышало риск развития РПЖ примерно в 4 раза [18].

### Обнаружение онкобелка Е7 ВПЧ в клетках РПЖ

Весомым аргументом в пользу участия ВПЧ в канцерогенезе в предстательной железе могли бы явиться данные о функциональной активности вирусного генома в случае обнаружения ДНК вируса в клетках РПЖ. Такой аргумент получен группой итальянских исследователей [22]. Проведя ретроспективный анализ 150 случаев первичного РПЖ, которые были диагностированы в период 1992–1994 гг., авторы с помощью иммуногистохимического метода обнаружили онкобелок Е7 ВПЧ в хирургически удаленной опухолевой ткани 122 образцов (74,67%).



В работе была использована смесь моноклональных анти-тел Cervitax, позволяющая обнаруживать онкобелок E7 ВПЧ всех типов высокого онкогенного риска, а также четырех типов ВПЧ, у которых до настоящего времени онкогенный потенциал в эпителии слизистых оболочек обнаружен не был [23]. Во всех случаях, когда удалось выделить ДНК из этих образцов и определить тип вируса путем секвенирования, им был ВПЧ типа 16. При этом общая выживаемость больных, опухоли которых, по результатам окрашивания антителами к E7 ВПЧ, оказались позитивными, была значительно ниже, чем у пациентов с негативными опухолями: 4,59 и 8,24 года, соответственно. По результатам проведенного М. Pascale и соавт. анализа, ВПЧ-статус оказался независимым фактором прогноза общей выживаемости больных РПЖ наряду с другими традиционно используемыми факторами, которые также учитывали в данной работе: возраст, показатель по шкале Глисона (служащий для гистологической оценки дедифференцировки РПЖ) и степень анаплазии ядер (nuclear grade) [24, 25]. Таким образом, М. Pascale и соавт. не только обнаружили онкобелок E7 ВПЧ в трех из четырех изученных ими образцов РПЖ, но и выявили неблагоприятное влияние присутствия этого белка в опухоли на общую выживаемость больных.

### Результаты эпидемиологических исследований

Неоднократно были предприняты попытки уточнить роль ВПЧ в возникновении РПЖ с помощью эпидемиологических подходов. При планировании подобных работ исследователи преодолевали очевидное методическое затруднение, связанное с невозможностью получения ткани предстательной железы от здоровых лиц для формирования контрольной группы. Поэтому в таких работах присутствие ВПЧ оценивали не в ткани органа, а в крови по результатам серологического теста. Так, методом иммуноферментного анализа (ИФА) у обследуемых мужчин определяли наличие антител класса IgG к белкам L1 и L2, образующим капсид вирусной частицы [26–28], или антител к вирусоподобным частицам (virus-like particles), т.е. к белку L1 [6, 29, 30]. Международная группа экспертов по папилломавирусам посчитала этот метод весьма полезным в эпидемиологических исследованиях для оценок экспозиции к ВПЧ [7]. К его достоинствам (помимо того, что данный подход позволяет обойтись без биопсий) можно отнести возможность кумулятивной оценки предыдущих эпизодов проникновения вируса в организм за длительный период, а также отсутствие трудностей, сопряженных с применением ПЦР: угроза контаминации, зависимость от характеристики используемого опухолевого образца (свежезамороженный или формализированный), амплификация какого именно участка генома проведена и т.д. Среди ограничений метода следует указать на невозможность учета элиминации вируса из организма под действием иммунитета. Например, при заражении ВПЧ эпителия шейки матки это происходит быстро [7, 31], вследствие чего присутствие антител к белкам капсида ВПЧ в крови не может быть расценено как безусловное свидетельство инфицированности человека на момент взятия крови. Напротив, отрицательный результат ИФА не исключает присутствия в организме ВПЧ в момент получения образца крови. Так, у женщин, у которых в эпителии шейки матки присутствие ВПЧ было подтверждено микроскопически и с помощью лабораторных тестов на ДНК вируса, IgG к белкам капсида ВПЧ присутствовал в сыворотке крови

лишь у половины обследованных [7]. Наконец, положительный результат ИФА в данном случае не позволяет судить, какой конкретно орган заражен на настоящее время или был инфицирован ВПЧ ранее.

Группа финских авторов, использовавших гнездовой метод «случай–контроль», показала ассоциацию РПЖ с ВПЧ 16-го и 18-го типа, но не с типами 11 и 33. Риск РПЖ возрастал при наличии антител к ВПЧ 16-го и ВПЧ 18-го типа в 2,4 и 2,6 раза, соответственно [26].

В работе, выполненной методом «случай–контроль» в Швеции, исследователи не подтвердили наличие связи РПЖ с ВПЧ 16-го и 18-го типа, но получили данные, указывающие на возможную ассоциацию РПЖ с ВПЧ типа 33, при этом относительный риск составил 1,6, а для индивидуумов с особенно высокими титрами антител он оказался равным 2,3 [27]. Позже в масштабном проспективном исследовании, проведенном гнездовым методом «случай–контроль» среди норвежских, шведских и финских мужчин, в общей сложности более чем 200 тыс. участников, повышения риска возникновения РПЖ не было выявлено ни при интегральной оценке антител к вирусам всех трех типов (16, 18 и 33), ни при учете результатов отдельно для каждого типа ВПЧ, ни при анализе данных из каждой страны-участницы, ни при учете разного содержания антител [28]. Итогом работы стал вывод о том, что серологические маркеры ВПЧ этих трех типов не связаны с риском развитием РПЖ.

F. Sitas и соавт., применив метод «случай–контроль», не выявили наличия ассоциации с присутствием в сыворотке крови антител к ВПЧ 16 типа у чернокожих ВИЧ-негативных больных РПЖ в Южной Африке [29]. Убедительность этих данных возрастает ввиду того, что авторы зафиксировали ассоциацию между ВПЧ 16-го типа и РШМ.

Ассоциаций между серопозитивностью по ВПЧ 16, 18 и 31-го типа и риском развития РПЖ не было обнаружено и в проспективном исследовании, проведенном методом «случай–контроль» в США [30]. Однако повышение концентрации IgG к ВПЧ 16-го и 31-го типов имело место у части больных, у которых рак был выявлен в последней биопсии (при завершении исследования), и опухоль характеризовалась высоким показателем по шкале Глисона (> 7 баллов) [24, 30].

Участие ВПЧ в возникновении РПЖ ставят под сомнение результаты работы, проведенной методом «случай–контроль» в Чехии [6]. Сопоставив путем ИФА содержание антител в сыворотке крови к ВПЧ 6, 11, 16, 18, 31 и 33-го типа для двух групп обследуемых (329 больных РПЖ и 105 мужчин с доброкачественной гиперплазией предстательной железы), авторы не обнаружили различий между ними по доле случаев, серопозитивных по ВПЧ типов 6, 11, 16, 31 и 33. Что касается серопозитивности по ВПЧ 18-го типа, то она значимо преобладала в группе «контроль» по сравнению с группой «случай». Вместе с тем у больных РПЖ серопозитивность по ВПЧ 6-го типа сопровождалась достоверно более высокими значениями показателя по шкале Глисона, т.е. большей степенью анаплазии опухолевых клеток.

Итак, данные эпидемиологических исследований, посвященных анализу роли ВПЧ в возникновении РПЖ, противоречивы. Преобладают сообщения об отсутствии связи между РПЖ и экспозицией организма к ВПЧ типов высокого онкологического риска. При интерпретации этих данных важно учитывать упомянутые выше ограничения иммунологического метода оценки экспозиции к ВПЧ. К тому же признанным индикатором экспозиции организма к развивающейся в нем ВПЧ-ассоциированной опухоли служит присутствие в сыворотке крови иммуноглобулинов к ранним белкам вируса E6 и E7, а не к белкам

капсиды вирусной частицы [32, 33]. Насколько нам известно, работы, в которых у больных РПЖ было бы проверено наличие в сыворотке крови антител к вирусным онкобелкам Е6 и Е7, отсутствуют, поэтому исследования в данном направлении весьма актуальны.

### Трансформация нормальных эпителиальных клеток предстательной железы с помощью ДНК онкогенного ВПЧ

В случаях, когда работы, проводимые на клиническом материале, дают противоречивые результаты, возрастает значимость данных, полученных на экспериментальных моделях. В этой связи принципиально важны сообщения Р.С. Weijerman и соавт., опубликованные в 1994–1998 гг., в которых описано проведение успешной трансформации нормальных эпителиальных клеток предстательной железы человека с помощью ДНК ВПЧ 18-го типа. Именно этот ВПЧ обладает высоким сродством к железистому эпителию, и поэтому, в частности, он нередко может быть обнаружен в аденогенном РШМ. Клетки полученной этими исследователями линии-трансфектанта приобрели способность к длительной пролиферации *in vitro* (около 100 пассажей), тогда как исходные нормальные клетки погибали через 4 пассажа; в них начался синтез онкобелка Е6, и появились нарушения кариотипа, указывающие на их клоновую природу. Многократно по сравнению с культурами нормальных клеток предстательной железы, полученными без участия ВПЧ, в них возросло содержание мРНК, соответствующей простатспецифическому антигену. В то же время опухолеродностью при подкожной прививке бестимусным мышам эти клетки не обладали [34–36]. Авторы высказали предположение о том, что, приобретя способность к неограниченной пролиферации *in vitro* (став имморталиными) под действием ВПЧ 18, в дальнейшем эти клетки за счет усилившейся генетической нестабильности могут спонтанно приобретать и опухолеродность. Полученную клеточную линию они предложили рассматривать как модель реального канцерогенеза в предстательной железе, происходящего с участием ВПЧ высокого онкогенного риска.

### Результаты скрининга российских мужчин на присутствие ДНК ВПЧ в мочеполовой системе

Публикации, посвященные анализу возможной связи между ВПЧ и РПЖ у российских больных, нам неизвестны. В рамках темы настоящего обзора представляют интерес данные скрининга неслучайной выборки здоровых российских мужчин на присутствие ДНК ВПЧ в мочеполовой системе [21]. Были проанализированы материалы от 752 индивидуумов, проходивших обследование в клиниках Санкт-Петербурга на предмет возможных заболеваний, передаваемых половым путем. Помимо обычных в таких случаях тестов на ряд бактерий и вирусов при получении информированного согласия у мужчин были взяты мазок из дистального отдела мочеиспускательного канала, а затем — выделенный секрет предстательной железы (ВСПЖ). Процедура взятия проб позволяла минимизировать вероятность контаминации ВСПЖ вирусами из эпителия уретры. По результатам ПЦР, 47,9% обследованных мужчин оказались ВПЧ-позитивными хотя бы в одном из двух органов (предстательная железа, мочеиспускательный канал), 42% были позитивными по ВПЧ типов высокого онкогенного риска и 12,6% — позитивными одно-

временно по нескольким типам ВПЧ. ВПЧ-позитивными были 32,6% образцов ВСПЖ, а 27,7% из них содержали ВПЧ типов высокого онкогенного риска. Среди образцов, полученных из дистального отдела мочеиспускательного канала, ВПЧ-позитивными были 25,9%, а 24,5% — позитивными по ВПЧ типов высокого онкогенного риска. Только у 10,6% обследованных мужчин положительными по ВПЧ оказались одновременно образцы ВСПЖ и эпителия уретры, а тип вируса совпал в образце ВСПЖ и уретры у 6,4%. В обеих сериях образцов наиболее часто обнаруживали ВПЧ 16-го типа. Одновременное присутствие ВПЧ нескольких типов в ВСПЖ имело место чаще, чем в эпителии дистального отдела мочеиспускательного канала: 8,1 и 5,2%, соответственно. В старших возрастных группах и в мочеиспускательном канале, и в ВСПЖ обнаружение ВПЧ было отмечено достоверно реже, чем у молодых мужчин. Значения прочих изученных параметров (возраст начала половой жизни, число партнеров, наличие на момент обследования заболеваний, передаваемых половым путем) не коррелировали с ВПЧ-статусом ВСПЖ и эпителия мочеиспускательного канала. Таким образом, тестирование образцов ВСПЖ вдвое повысило частоту обнаружения ВПЧ в мочеполовой системе мужчин из обследованной выборки. Авторы считают, что ВПЧ попадает в образцы ВСПЖ не из эпителия уретры, аргументируя эту точку зрения тем, что нередко (21,9% случаев) тестирование ВСПЖ давало положительный результат, а тестирование эпителия уретры — отрицательный, а также тем, что далеко не всегда у индивидуумов с позитивным статусом по ВПЧ и предстательной железы, и уретры тип ВПЧ был в обоих органах идентичным. Наиболее вероятным источником попадания ВПЧ в ВСПЖ они считают клетки предстательной железы, хотя не исключают и эпителий соседних органов [21].

Указанная работа — первая попытка детекции ВПЧ в секрете предстательной железы. ВСПЖ оказался подходящим источником для выявления степени зараженности мужских контингентов ВПЧ, в т.ч. для детекции этих вирусов у лиц с негативным ВПЧ-статусом дистальных отделов мочеиспускательного канала. Полученные данные имеют прямое отношение к проблеме ассоциированности РПЖ и других форм рака у мужчин с ВПЧ; их необходимо учитывать при анализе путей передачи ВПЧ в популяции.

### Неблагоприятные медицинские последствия инфицированности мужчин ВПЧ

В целом ВПЧ-инфицированность мужчин до недавнего времени привлекала значительно меньшее внимание врачей и биологов, нежели инфицированность женщин. Ситуация начала меняться с момента доказательств способности ВПЧ типов высокого онкогенного риска оказывать канцерогенное действие не только на эпителий шейки матки и влагалища, но и на области прямой кишки и гениталий мужчин, а также возможности поражения ротоглотки лиц обоего пола ВПЧ-позитивными карциномами. По последним оценкам, в Европе приблизительно каждый четвертый вновь выявляемый случай рака у мужчин может быть отнесен к категории ВПЧ-позитивных, а подавляющее большинство из них — к положительным по ВПЧ 16-го или 18-го типа [37]. Важно отметить, что соответствующие расчеты проведены только для тех форм рака, для которых этиологическая роль ВПЧ доказана (рак прямой кишки, полового члена, ротоглотки), РПЖ в их число не входит. Помимо того, что мужчины заболевают ВПЧ-позитивными формами рака, они служат резервуаром, обе-

спечаивающим поддержание ВПЧ-инфекции в популяции в целом, причем эта роль мужской части населения остается во многом неясной. Установление факта конкордантности типов ВПЧ в супружеских парах может быть стимулом для дальнейших исследований в этом направлении [38, 39].

Неблагоприятные медицинские последствия инфицированности мужчин ВПЧ, по-видимому, не исчерпаны возникновением у них самих новых случаев рака и опасностью передачи инфекции партнеру. Значение сенсационных результатов, опубликованных исследовательским коллективом из Италии, вероятно, в полной мере будет оценено в ходе дальнейших исследований. Методом флуоресцентной гибридизации *in situ* С. Foresta и соавт. показали присутствие ДНК ВПЧ в головках сперматозоидов ВПЧ-инфицированных мужчин, а в модельной системе «человек–хомяк» осуществили перенос вирусных онкогенов Е6 и Е7 ВПЧ 16-го типа с помощью трансфицированных ими сперматозоидов в ооцит хомяка и наблюдали транскрипцию их в ооците [40, 41]. В исследовании, проведенном в северном Китае, охватившем в общей сложности 1138 мужчин, было показано, что ДНК ВПЧ нередко может быть обнаружена в сперме, и что ВПЧ-позитивность снижает фертильность мужских гамет, влияя как на их подвижность, так и на морфологию. Среди индивидуумов с подтвержденной фертильностью гамет ВПЧ-позитивные составляли 6,7%, а среди нефертильных — 17,4%; чаще других у нефертильных мужчин выявляли ВПЧ типов 45, 52, 18, 59 и 16, которые принадлежат к категории онкогенных для человека [42].

### Заключение

РПЖ отнесен Международной группой экспертов к злокачественным опухолям, в отношении к которым недостаточно данных (inadequate evidence) для убедительного вывода об участии ВПЧ в их возникновении [7]. Результаты, полученные в последние годы, также весьма неоднородны. С одной стороны, вирусная ДНК нередко присутствует в опухолевых клетках, и показана возможность продукции вирусных онкобелков в образцах РПЖ [22]. Для оценки роли ВПЧ типов высокого онкогенного риска в генезе РПЖ весьма важны также результаты более ранних работ

Р.С. Weijerman и соавт., осуществивших успешную попытку трансформации нормальных эпителиальных клеток предстательной железы человека с помощью ДНК ВПЧ 18-го типа в эксперименте *in vitro* [34]. С другой стороны, в ряде эпидемиологических работ показано отсутствие связи между возникновением РПЖ и экспозицией к ВПЧ [6, 28, 29].

ДНК ВПЧ типов высокого онкогенного риска нередко обнаруживают в соседних с предстательной железой органах — мочеиспускательном канале, прямой кишке, мочевом пузыре [19–21]. Работа, проведенная в России на группе мужчин, проходивших обследование на заболелания, передаваемые половым путем, выявила наличие ВПЧ-инфекции в мочеполовой сфере, включая секрет предстательной железы, у каждого второго здорового мужчины; у 42% обследованных были обнаружены ВПЧ типов высокого онкогенного риска [21].

Отсутствие окончательного вывода об участии ВПЧ типов высокого онкогенного риска в развитии РПЖ обосновывает необходимость дальнейших исследований в этой области. Совокупность рассмотренных в настоящем обзоре данных может быть важна для решения практического вопроса — принятия программы профилактической вакцинации не только для девочек, но и для мальчиков. Так, на необходимость вакцинации мальчиков указывает лауреат Нобелевской премии в области изучения папилломавирусного канцерогенеза проф. Х. Цурхаузен [9]. Практическая польза этого мероприятия получает подтверждения: предварительные данные свидетельствуют о резком снижении заболеваемости мужчин ВПЧ-позитивными формами аногенитальных карцином и бородавок после введения им квадριвалентной профилактической вакцины [43]. Сопоставление заболеваемости РПЖ в группах вакцинированных и невакцинированных в подростковом возрасте мужчин может стать эффективным подходом к прояснению роли онкогенных ВПЧ в возникновении этой формы рака.

### Конфликт интересов

Автор данной статьи подтвердил отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

- Center M.M., Jemal A., Lortet-Tieulent J., Ward E., Ferlay J., Brayley O., Bray F. International variation in prostate cancer incidence and mortality rates. *Eur. Urol.* 2012; 61 (6): 1079–1092.
- Siegel R., Naishadham D., Jemal A. Cancer statistics, 2013. *Cancer J. Clin.* 2013; 63: 11–30.
- Schröder F.H., Roobol M.J. Prostate cancer epidemic in sight? *Eur. Urol.* 2012; 61 (6): 1093–1095.
- Заридзе Д.Г. Профилактика рака. М.: ИМА ПРЕСС. 2009. 222 с.
- Злокачественные новообразования в России в 2012 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинскова, Г.В. Петровой. М.: ФГБУ МНИИОИ им. П.А. Герцена. 2014. 250 с.
- Hrbacek J., Urban M., Hamsikova E., Tachezy R., Eis V., Brabec M. Heracek J. Serum antibodies against genitourinary infectious agents in prostate cancer and benign prostate hyperplasia patients: a case-control study. *BMC Cancer.* 2011; 3 (11): 53.
- IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Human papillomaviruses. *Lyon.* 2007. Vol. 90. 689 p.
- IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. A review of human carcinogens. Part B. Biological agents. *Lyon.* 2011. Vol. 100. 502 p.
- zur Hauzen H. Papillomaviruses — to vaccination and beyond. *Biochemistry.* 2008; 73 (5): 498–505.
- Ruijter E., van de Kaa C., Miller G., Ruiter D., Debruyne F., Schalken J. Molecular genetics and epidemiology of prostate carcinoma. *Endocr. Rev.* 1999; 20 (1): 22–45.
- Zambrano A., Kalantari M., Simoneau A., Jensen J.L., Villarreal L.P. Detection of human polyomaviruses and papillomaviruses in prostatic tissue reveals the prostate as a habitat for multiple viral infections. *The Prostate.* 2002; 53 (4): 263–276.
- Taylor M.L., Mainous A.G., Wells B.J. Prostate cancer and sexually transmitted diseases: a meta-analysis. *Family Medicine.* 2005; 37 (7): 506–512.
- Kasiske B.L., Snyder J.J., Gilbertson D.T., Wang C. Cancer after kidney transplantation in the United States. *Am. J. Transplant.* 2004; 4 (6): 905–913.
- Grulich A.E., van Leeuwen M.T., Falster M.O., Vajdic C.M. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet.* 2007; 370 (9581): 59–67.
- Collett D., Mumford L., Banner N.R., Neuberger J., Watson C. Comparison of the Incidence of Malignancy in Recipients of Differ-

- ent Types of Organ: A UK Registry Audit. *Am. J. Transplant.* 2010; 10 (8): 1889–1896.
16. Engels E.A., Pfeiffer R.M., Fraumeni J.F. Jr., Kasiske B.L., Israni A.K., Snyder J.J., Wolfe R.A., Goodrich N.P., Bayakly A.R., Clarke C.A., Copeland G., Finch J.L., Fleissner M.L., Goodman M.T., Kahn A., Koch L., Lynch C.F., Madeleine M.M., Pawlish K., Rao C., Williams M.A., Castenson D., Curry M., Parsons R., Fant G., Lin M. Spectrum of cancer risk among US solid organ transplant recipients. *JAMA.* 2011, 306 (17): 1891–1901.
  17. Leiros G.J., Galliano S.R., Sember M.E., Kahn T., Schwarz E., Eiguchi K. Detection of human papillomavirus DNA and p53 codon 72 polymorphism in prostate carcinomas of patients from Argentina. *BMC Urology.* 2005; 24 (5): 15.
  18. Martinez-Fierro M.L., Leach R.J., Gomez-Guerra L.S., Garza-Guajardo R., Johnson-Pais T., Beuten J., Morales-Rodriguez I.B., Hernandez-Ordóñez M.A., Calderon-Cardenas G., Ortiz-Lopez R., Rivas-Estilla A.M., Ancer-Rodriguez J., Rojas-Martinez A. Identification of viral infections in the prostate and evaluation of their association with cancer. *BMC Cancer.* 2010; 24 (10): 326.
  19. Deschoolmeester V., Van Marck V., Baay M., Weyn C., Vermeulen P., Van Marck E., Lardon F., Fontaine V., Vermorken J.B. Detection of HPV and the role of p16INK4A overexpression as a surrogate marker for the presence of functional HPV oncoprotein E7 in colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2010; 6 (10): 117.
  20. Golovina D.A., Trofimova O.B., Ermilova V.D., Matveev V.B., Volgareva G.M. Complex of molecular genetic and immunohistochemical methods for detection of human papillomavirus in the bladder cancer epithelium. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2014; 157 (1): 70–73.
  21. Smelov V., Eklund C., Bzhhalava D., Novikov A., Dillner J. Expressed prostate secretions in the study of human papillomavirus epidemiology in the male. *PLOS One.* 2013; 8 (6): 625–630.
  22. Pascale M., Pracella D., Barbazza R., Marongiu B., Roggero E., Bonin S., Stanta G. Is human papillomavirus associated with prostate cancer survival? *Dis. Markers.* 2013; 35 (6): 607–613.
  23. Faoro V., Barbazza R., Bonin S., Brunetti D., Sulfaro S., Stanta G. Detection of HPV E7 oncoviral protein in cervical lesions by a new antibody. *Appl. Immun. Mol. Morphol.* 2013; 21 (4): 341–350.
  24. Montironi R., Mazzuccheli R., Scarpelli M., Lopez-Beltran A., Fellegara G., Algaba F. Gleason grading of prostate cancer in needle biopsies or radical prostatectomy specimens: contemporary approach, current clinical significance and sources of pathology discrepancies. *BJU Int.* 2005; 95 (8): 1146–1152.
  25. Thompson I.M., Ankerst D.P., Chi C., Goodman P.J., Tangen C.M., Lucia M.S., Feng Z., Parnes H.L., Coltman C.A. Jr. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98 (8): 529–534.
  26. Dillner J., Knekt P., Boman J., Lehtinen M., Af Geijersstam V., Sapp M., Schiller J., Maatela J., Aromaa A. Sero-epidemiological association between human-papillomavirus infection and risk of prostate cancer. *Int. J. Cancer.* 1998; 75 (4): 564–567.
  27. Adami H.O., Kuper H., Andersson S.O., Bergström R., Dillner J. Prostate cancer risk and serologic evidence of human papilloma virus infection: a population based case control study. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2003; 12 (9): 872–875.
  28. Korodi Z., Dillner J., Jellum E., Lumme S., Hallmans G., Thoresen S., Hakulinen T., Stattin P., Luostarinen T., Lehtinen M., Hakama M. Human papillomavirus 16, 18 and 33 infections and risk of prostate cancer: a Nordic nested case control study. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2005; 14 (12): 2952–2955.
  29. Sitas F., Urban M., Stein L., Ruff P., Patel M., O'Connell D., Yu X.Q., Verzijden A., Marais D., Williamson A.L. The relationship between anti-HPV-16 IgG seropositivity and cancer of the cervix, anogenital organs, oral cavity and pharynx, oesophagus and prostate in a black South African population. *Infect. Agent Cancer.* 2007; 2: 6.
  30. Sutcliffe S., Viscidi R.P., Till C., Hoque A.M., Hsing A.W., Thompson I.M., Zenilman J.M., De Marzo A.M., Platz E.A. Human papillomavirus types 16, 18, and 31 serostatus and prostate cancer risk in the Prostate Cancer Prevention Trial. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2010; 19 (2): 614–618.
  31. Franco E.L., Villa L.L., Sobrinho J.P., Prado J.M., Rousseau M.C., Déry M., Rohan T.E. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J. Infect. Dis.* 1999; 180 (5): 1415–1423.
  32. Zumbach K., Kisseljov F., Sacharova O., Shaichav G., Semjonova L., Pavlova L., Pawlita M. Antibodies against oncoproteins E6 and E7 of human papillomavirus types 16 and 18 in cervical-carcinoma patients from Russia. *Int. J. Cancer.* 2000; 85 (3): 313–318.
  33. Gillison M.L., Shah K.V. Role of mucosal human papillomavirus in nongenital cancers. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 2003; 31: 57–65.
  34. Weijerman P.C., König J.J., Wong S.T., Niesters H.G., Peehl D.M. Lipofection-mediated immortalization of human prostatic epithelial cells of normal and malignant origin using human papillomavirus type 18 DNA. *Cancer Res.* 1994; 54 (21): 5579–5583.
  35. Weijerman P.C., van Drunen E., König J.J., Teubel W., Romijn J.C., Schröder F.H., Hagemeyer A. Specific cytogenetic aberrations in two novel human prostatic cell lines immortalized by human papillomavirus type 18 DNA. *Cancer Gen. Cytogenet.* 1997; 99 (2): 108–115.
  36. Weijerman P.C., Zhang Y., Shen J., Dubbink H.J., Romijn J.C., Peehl D.M., Schröder F.H. Expression of prostatic factors measured by reverse transcription polymerase chain reaction in human papillomavirus type 18 deoxyribonucleic acid immortalized prostate cell lines. *Urology.* 1998; 51 (4): 657–662.
  37. Hartwig S., Syrjänen S., Dominiak-Felden G., Brotons M., Castellsague X. Estimation of the epidemiological burden of human papillomavirus-related cancers and nonmalignant diseases in men in Europe. *BMC Cancer.* 2012; 12: 30.
  38. Reiter P.L., Pendergraft W.F., Brewer N.T. Meta-analysis of human papillomavirus infection concordance. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2010; 19 (11): 2916–2931.
  39. de Lima Rocha M.G., Faria F.L., Goncalves L., Souza Mdo C., Fernandes P.Á., Fernandes A.P. Prevalence of DNA-HPV in male sexual partners of HPV infected women and concordance of viral types in infected couples. *PLoS One.* 2012; 7 (7): 40988.
  40. Foresta C., Garolla A., Zuccarello D., Pizzol D., Moretti A., Barzon L., Palù G. Human papillomavirus found in sperm head of young adult males affects the progressive motility. *Fertil. Steril.* 2010; 93 (3): 802–806.
  41. Foresta C., Patassini C., Bertoldo A., Menegazzo M., Francavilla F., Barzon L., Ferlin A. Mechanism of human papillomavirus binding to human spermatozoa and fertilizing ability of infected spermatozoa. *PLoS One.* 2011; 6 (3): 15036.
  42. Yang Y., Jia C.W., Ma Y.M., Zhou L.Y., Wang S.Y. Correlation between HPV sperm infection and male infertility. *Asian J. Androl.* 2013; 15 (4): 529–532.
  43. Lenzi A., Mirone V., Gentile V., Bartoletti R., Ficarra V., Foresta C., Mariani L., Mazzoli S., Parisi S.G., Perino A., Picardo M., Zotti C.M. Rome Consensus Conference - statement; human papilloma virus diseases in males. *BMC Public Health.* 2013; 13: 117.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Волгарева Галина Михайловна**, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов гибели опухолевых клеток РОНЦ им. Н.Н. Блохина  
**Адрес:** 115478, Москва, Каширское ш., д. 24, **тел.:** +7 (499) 324-13-35, **e-mail:** gmvolgareva@front.ru

Р.В. Кубасов<sup>1</sup>, Ю.Е. Барачевский<sup>1</sup>, А.М. Иванов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

## Гипофизарно-надпочечниковая и тиреоидная секреция у сотрудников МВД при различных уровнях профессиональной напряженности

Сформированные на сегодняшний день взгляды на этиологию и патогенез нарушений состояния здоровья человека вследствие воздействия экстремальных факторов показывают, что ведущий механизм в их возникновении — напряжение регуляторных систем (нейроиммуноэндокринного комплекса). В эндокринном звене происходит разбалансировка тропных функций гипоталамо-гипофизарной оси, нарушение физиологических связей в системе центральные — периферические железы внутренней секреции (гипофиз — надпочечники, гипофиз — щитовидная железа) и, как следствие, изменение метаболизма. **Цель исследования:** определить в сыворотке крови концентрации аденокортикотропного гормона (АКТГ), кортизола, тиреотропного гормона (ТТГ), тироксина ( $T_4$ ) и трийодтиронина ( $T_3$ ) у личного состава Управления Министерства внутренних дел (МВД) России в зависимости от уровня выполняемой ими профессиональной нагрузки. **Методы:** проведено 2 серии исследований среди сотрудников Управления Министерства внутренних дел России — комбатантов, рядовых полицейских и курсантов. Время обследования для всех соответствовало началу миссии на территорию вооруженного конфликта комбатантов и ее завершению. **Результаты:** наиболее высокий уровень АКТГ и ТТГ отмечен в группе комбатантов в обоих исследованиях. Содержание кортизола,  $T_4$  и  $T_3$  у комбатантов до командировки оказалось наименьшим в сравнении с другими группами, а после командировки — самым высоким. **Заключение:** длительные изменения секреторной функции эндокринной системы, приводящие к гормональному дисбалансу, могут привести к срыву адаптационного процесса. В этой связи в системе медицинского обеспечения лиц, подвергающихся воздействию экстремальных негативных профессиональных факторов, необходимо создание и полноценное функционирование эндокринологического звена с целью увеличения сопротивляемости и жизнестойкости организма к условиям экстремальных воздействий чрезвычайных ситуаций, а также предупреждения возникновения патологических состояний.

**Ключевые слова:** экстремальные профессиональные условия, аденокортикотропный гормон, кортизол, тиреотропный гормон, тироксин, трийодтиронин.

(Вестник РАМН. 2015; 1: 101–105)

101

### Обоснование

В организме человека, подвергнутого воздействию различных негативных, в т.ч. и профессиональных, факторов, происходят функциональные изменения, направ-

ленные на обеспечение быстрой адаптации к изменяющимся условиям. При этом эндокринной системе принадлежит одна из ведущих ролей. Среди основных эндокринных звеньев в данном ответе выделяют активацию гипофизарно-надпочечниковой системы (секреция

R.V. Koubassov<sup>1</sup>, Yu.E. Barachevsky<sup>1</sup>, A.M. Ivanov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Northern State Medical University, Archangelsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russian Federation

## Hypophysis-Adrenal and Thyroid Secretion at Law Order Staff Depending on Professional Loading

**Background:** A current etiological and pathogenic opinion about human health disturbance thereupon extreme factor effects is shown that this cause is principal mechanism of regulatory system (neuroimmunoendocrine complex) distress. In endocrine link occurs hormonal disbalance in hypothalamus-hypophysis axis, physiological interrelation disturbances in central — peripheral gland system (hypophysis-adrenal, hypophysis-thyroid) and metabolism abnormalities subsequently. **Objective:** Our aim was to determine the particular content of adrenocorticotrophic and thyrotrophic hormone, cortisol, thyroxin and triiodothyronine features at law order staff in dependence from professional loading. **Methods:** It's provided two investigation series among law order staff groups — combatants, ordinary policemen and military school students. The investigation period for all people corresponds to combat mission beginning and its finish. In blood serum an adrenocorticotrophic (ACTH) and thyrotrophic (TSH) hormone, cortisol, thyroxin ( $T_4$ ) and triiodothyronine ( $T_3$ ) levels were determined. **Results:** A higher ACTH and TSH levels detected at combatants in both investigation series. A cortisol,  $T_4$  and  $T_3$  at combatants before military mission were least in comparative with other groups, but after mission it indexes were largest. **Conclusion:** Prolonged changes of endocrine secretory function that lead to hormonal disbalance can result to adaptation derangement. In connection with it in medical providing system for person that undergo extreme negative professional factors it's necessary create a special endocrine link with the view of organism resistance and life viability to extreme emergency factors and for prevention of pathological conditions.

**Key words:** extreme professional factors, adrenocorticotrophic hormone, cortisol, thyrotrophic hormone, thyroxin, triiodothyronine.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 101–105)

адренкортикотропного гормона, кортизола) [1]. В то же время другие звенья, в частности тиреоидная система регуляции, вносят значительный вклад в формирование механизмов компенсации при экстремальных воздействиях на организм. Изменения в тиреоидной системе регуляции тесно взаимосвязаны с адреналовым звеном [2].

Выполнение профессиональных обязанностей у сотрудников Управления Министерства внутренних дел (УМВД) России, как правило, протекает в экстремальных, а нередко и в чрезвычайных ситуациях, которые обусловлены воздействием неблагоприятных средовых и климатических факторов в обстановке дефицита времени, неопределенности событий и сопровождаются чувством угрозы собственной жизни и здоровью, а также высокой степенью ответственности за жизнь других людей. Интенсивность и длительность воздействия этих факторов способствуют возникновению разного рода нарушений здоровья — от функциональных сдвигов до развития патологических состояний стойкого характера со снижением качества деятельности вплоть до невозможности ее дальнейшего продолжения [3, 4].

Целью нашего исследования было изучение особенностей содержания уровней адренкортикотропного гормона, кортизола, тиреотропного гормона, тироксина и трийодтиронина у личного состава УМВД в зависимости от уровня выполняемой ими профессиональной нагрузки.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено рандомизированное когортное проспективное исследование.

### Критерии соответствия

Критериями включения для всех лиц при отборе были возраст 20–35 лет, служба в УМВД, отсутствие на момент исследования острых и хронических заболеваний.

Критерии включения для отдельных групп:

- 1) комбатанты — наличие командировок на территории, осложненные боевой обстановкой;
- 2) рядовые полицейские — отсутствие командировок на территории, осложненные боевой обстановкой;
- 3) курсанты — отсутствие командировок на территории, осложненные боевой обстановкой.

Критерии исключения: наличие острых или обострения хронических заболеваний, возраст моложе 20 и старше 35 лет.

### Условия проведения

1. Группа комбатантов — лица, командированные для обеспечения правопорядка в районы боевых действий на территории Северного Кавказа.

2. Рядовые полицейские — лица, несущие службу в условиях повседневной деятельности вне «горячих точек» (Архангельск).

3. Курсанты — лица, проходящие обучение в Центре профессиональной подготовки УМВД (Архангельск).

### Продолжительность исследования

Обследование всех лиц проведено двукратно с интервалом 4 мес (февраль и июнь). Комбатанты обследованы перед началом миссии на территорию вооруженного конфликта и по ее завершении. Соответственно, в этот же период времени обследованы лица, постоянно дислоцированные на территории г. Архангельска и включенные

во 2-ю и 3-ю группы. Необходимость повторного (сопряженного со временем обследования комбатантов) определения гормональных показателей в этих группах продиктована значительной степенью сезонной зависимости функционирования эндокринной системы [5].

### Методы регистрации исходных данных

У всех обследованных лиц в сыворотке крови определено содержание адренкортикотропного гормона (АКТГ, пг/мл) методом радиоиммунного анализа (коммерческий набор Cis-bio International, Франция), кортизола (нмоль/л), тиреотропного гормона (ТТГ, мЕд/л), тироксина ( $T_4$ , нмоль/л) и трийодтиронина ( $T_3$ , нмоль/л) методом иммуноферментного анализа (коммерческий набор Monobind Inc., США).

### Этическая экспертиза

Исследование проводили с соблюдением этических норм, изложенных в Хельсинкской декларации и Директивах Европейского сообщества (8/609ЕС). От всех обследуемых студентов было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании.

### Статистический анализ

Статистическая обработка полученных результатов, оценка распределения показателей, сравнительный анализ выборок проведены с помощью компьютерного пакета прикладных программ SPSS 13.0 for Windows (SPSS Inc., США). В связи с тем, что в исследуемых группах распределение отличалось от нормального, результаты статистического анализа представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25-й и 75-й перцентиль). Для сравнительного анализа уровней гормонов между обследованными группами использован критерий Манна–Уитни. Критический уровень значимости ( $p$ ) при проверке статистических гипотез принимали за 0,05. При  $0,1 < p > 0,05$  уровень значимости расценивали как тенденцию к различиям между сравниваемыми группами.

## Результаты исследования

### Участники исследования

Обследованы 156 мужчин из числа сотрудников УМВД по Архангельской области, которые, исходя из уровня профессиональной нагрузки, были разделены на 3 группы. В первую группу (48 человек, медиана возраста 28 лет, интерквартильный размах 27–31 год) были включены сотрудники, командированные для обеспечения правопорядка (комбатанты) на территории Северного Кавказа, где велись боевые действия. Вторую группу (52 человека, медиана возраста 26 лет, интерквартильный размах 25–30 лет) составили рядовые сотрудники полиции, несущие службу в условиях повседневной деятельности вне «горячих точек» (Архангельск). В третью группу (56 человек, медиана возраста 25 лет, интерквартильный размах 22–34 года) вошли курсанты учебного центра УМВД, проходящие обучение в Архангельске.

### Основные результаты исследования

Анализ полученных результатов показал значительные различия в содержании исследуемых показателей между группами сотрудников УМВД. При этом их уровень не выходил за пределы установленных физиологических норм.

Сравнение исходных концентраций АКТГ в различных группах при исследовании в феврале выявило наи-

более высокое его содержание (16,80; 13,65–30,45 пг/мл) у комбатантов (рис. 1). У курсантов этот показатель оказался значимо ниже (13,05; 9,00–18,90 пг/мл,  $p = 0,04$ ), а наименьший его уровень отмечен у полицейских, несущих службу в условиях повседневной деятельности (8,25; 6,00–12,00 пг/мл,  $p < 0,001$  в сравнении с комбатантами и  $p = 0,03$  в сравнении с курсантами).

Через 4 мес (июнь), к моменту завершения командировки, содержание АКТГ в сыворотке крови у комбатантов увеличилось более чем в 2 раза (48,80; 33,65–87,75 пг/мл;  $p < 0,001$ ) по сравнению с предыдущим периодом. При этом отмечено значительное расширение (в 3 раза) диапазона индивидуальных значений АКТГ в этой группе со сдвигом в сторону высоких концентраций. У сотрудников полиции, выполняющих обычные служебные функции, в июне отмечена тенденция к незначительному увеличению АКТГ (13,88; 7,50–22,50 пг/мл;  $p = 0,08$ ) в сравнении с предыдущим периодом, однако по отношению к комбатантам его содержание оказалось значимо ниже ( $p < 0,001$ ). У курсантов к июню отмечено снижение АКТГ (8,25; 5,55–11,40 пг/мл) в сравнении с первой ( $p < 0,001$ ) и второй ( $p = 0,03$ ) группами.

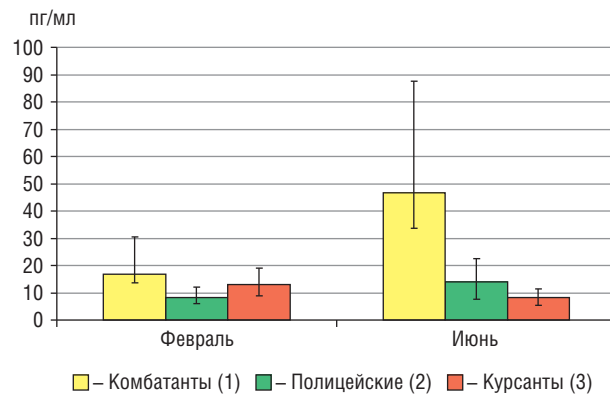
При анализе разницы в содержании кортизола между изучаемыми группами в отличие от АКТГ отмечены иные особенности (рис. 2). Так, на первом этапе исследования (февраль) наибольшая средняя концентрация кортизола выявлена в группе сотрудников полиции, несущих службу в условиях повседневной деятельности (549,00; 499,87–620,22 нмоль/л). В сравнении как с группой комбатантов (перед командировкой 384,95; 271,56–539,85 нмоль/л), так и курсантов (417,76; 332,66–509,41 нмоль/л) она оказалась выше ( $p = 0,002$  и  $p = 0,003$ , соответственно). При этом статистически значимых различий в содержании кортизола между группами комбатантов и курсантов не выявлено ( $p = 0,57$ ).

При последующем исследовании (через 4 мес) содержание кортизола в группе комбатантов значимо увеличилось (457,02; 388,62–549,21,  $p = 0,003$ ) по отношению ко времени перед командировкой. Этот показатель значимо превышал таковой как в группе полицейских, выполняющих служебные обязанности в Архангельске (318,14; 274,22–371,73 нмоль/л;  $p < 0,001$ ), так и у курсантов (248,64; 223,17–306,70 нмоль/л;  $p < 0,001$ ). Среди курсантов концентрация кортизола оказалась статистически значимо наименьшей в сравнении как с комбатантами, так и с сотрудниками полиции, работающими в обычном режиме ( $p = 0,003$ ).

Что касается особенностей содержания в крови гормонов тиреоидного звена регуляции в различных группах сотрудников УМВД, то здесь также выявлены определенные различия.

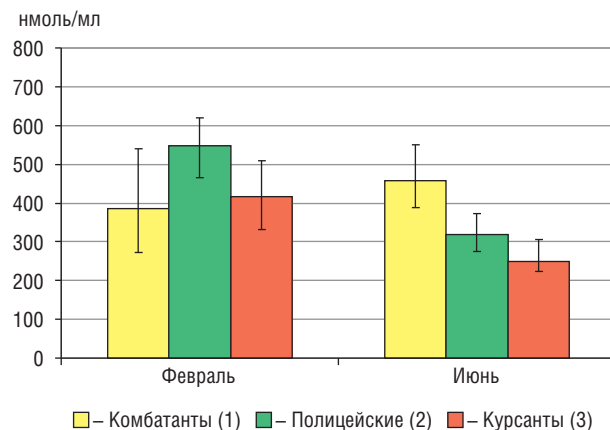
Наиболее высокая концентрация ТТГ обнаружена среди лиц, регулярно принимавших участие в подержании правопорядка в «горячих точках» (рис. 3). Перед командировкой (февраль) его содержание (1,96; 1,81–2,03 мЕд/л) оказалось статистически значимо выше в сравнении с курсантами (1,75; 1,71–1,98 мЕд/л,  $p = 0,04$ ) и полицейскими, несущими службу в повседневном режиме (1,66; 1,04–2,02 мЕд/л,  $p = 0,049$ ). При этом вариационный размах ТТГ у комбатантов значительно уже, чем в остальных группах. Достоверных различий содержания ТТГ между группами курсантов и полицейских не обнаружено.

В июне, после командировки, содержание ТТГ среди комбатантов практически не изменилось (1,92;



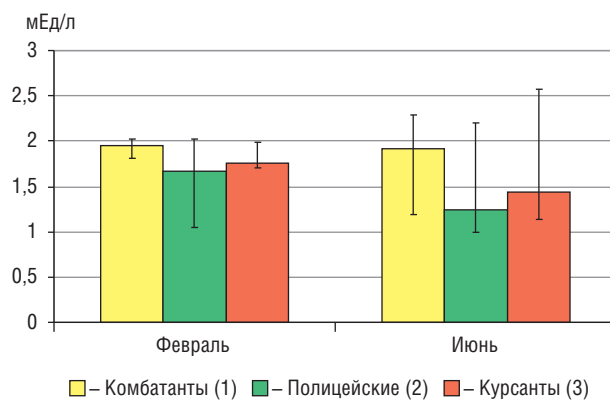
**Рис. 1.** Содержание сывороточного адренокортикотропного гормона в различных группах сотрудников УМВД (Ме; 25–75-й перцентиль).

*Примечание.* Статистические уровни значимости между сравниваемыми группами: февраль —  $p_{1-2} < 0,001$ ;  $p_{1-3} = 0,04$ ;  $p_{2-3} = 0,03$ ; июнь —  $p_{1-2} < 0,001$ ;  $p_{1-3} < 0,001$ ;  $p_{2-3} = 0,03$ .



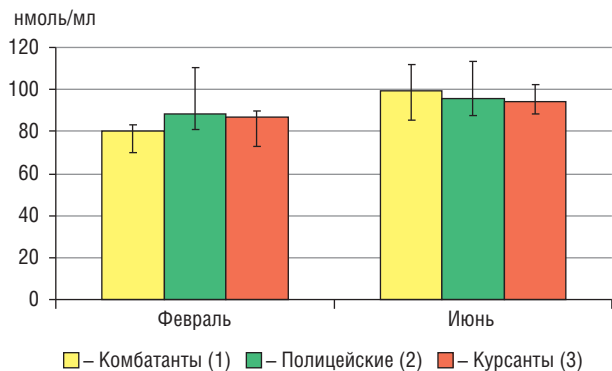
**Рис. 2.** Содержание сывороточного кортизола в различных группах сотрудников УМВД (Ме; 25–75-й перцентиль).

*Примечание.* Статистические уровни значимости между сравниваемыми группами: февраль —  $p_{1-2} = 0,002$ ;  $p_{1-3} = 0,57$ ;  $p_{2-3} = 0,003$ ; июнь —  $p_{1-2} < 0,001$ ;  $p_{1-3} < 0,001$ ;  $p_{2-3} = 0,003$ .



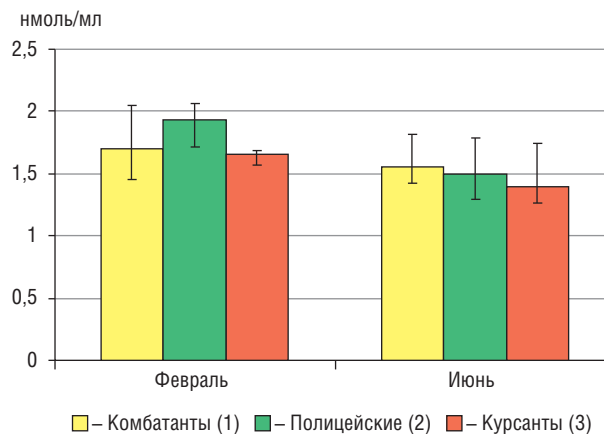
**Рис. 3.** Содержание сывороточного тиреотропного гормона в различных группах сотрудников УМВД (Ме; 25–75-й перцентиль).

*Примечание.* Статистические уровни значимости между сравниваемыми группами: февраль —  $p_{1-2} = 0,04$ ;  $p_{1-3} = 0,049$ ;  $p_{2-3} = 0,20$ ; июнь —  $p_{1-2} = 0,01$ ;  $p_{1-3} = 0,04$ ;  $p_{2-3} = 0,23$ .



**Рис. 4.** Содержание сывороточного тироксина в различных группах сотрудников УМВД (Me; 25–75-й перцентиль).

*Примечание.* Статистические уровни значимости между сравниваемыми группами: февраль —  $p_{1-2}=0,004$ ;  $p_{1-3}=0,15$ ;  $p_{2-3}=0,08$ ; июнь —  $p_{1-2}=0,69$ ;  $p_{1-3}=0,09$ ;  $p_{2-3}=0,49$ .



**Рис. 5.** Содержание сывороточного трийодтиронина в различных группах сотрудников УМВД (Me; 25–75-й перцентиль).

*Примечание.* Статистические уровни значимости между сравниваемыми группами: февраль —  $p_{1-2}=0,01$ ;  $p_{1-3}=0,71$ ;  $p_{2-3}=0,003$ ; июнь —  $p_{1-2}=0,32$ ;  $p_{1-3}=0,049$ ;  $p_{2-3}=0,39$ .

1,19–2,29 мЕд/л). В то же время в остальных группах его концентрация снизилась с соответствующим увеличением степени значимости различий — 1,43; 1,13–2,57 мЕд/л,  $p=0,04$  и 1,24; 0,99–2,21 мЕд/л,  $p=0,01$  для курсантов и полицейских, соответственно. Значимых статистических различий содержания ТТГ между группами курсантов и полицейских, как и на предыдущем этапе исследования, не обнаружено.

Анализ особенностей содержания тироксина показал гораздо меньшее число различий (рис. 4). Так, в феврале обнаружено только одно статистически значимое различие между комбатантами (80,00; 70,25–83,25 нмоль/л) и полицейскими (88,08; 81,01–110,44 нмоль/л), где уровень  $T_4$  оказался выше во второй группе ( $p=0,004$ ). Что касается группы курсантов (86,55; 73,11–89,69 нмоль/л), то у них обнаружена тенденция к более высокому содержанию  $T_4$  по сравнению с комбатантами ( $p=0,08$ ).

В июне среди всех изучаемых групп произошло увеличение уровня  $T_4$ , причем наиболее значительным оно было у комбатантов (99,35; 85,61–111,95 нмоль/л) с тенденцией к более высокому содержанию в сравнении с курсантами (94,50; 88,60–102,16 нмоль/л,  $p=0,09$ ).

Сравнение исходных концентраций  $T_3$  в различных группах (февраль) выявило наиболее высокое значение у полицейских (1,93; 1,71–2,06 нмоль/л), осуществляющих работу в повседневном режиме (рис. 5). Как у курсантов (1,66; 1,57–1,69 нмоль/л), так и у комбатантов (1,70; 1,45–2,05 нмоль/л) этот показатель был статистически значимо ниже ( $p=0,003$  и  $p=0,003$ , соответственно).

Через 4 мес (июнь) содержание  $T_3$  в сыворотке крови во всех группах снизилось. Наиболее значительное снижение этого показателя отмечено среди курсантов (1,39; 1,26–1,75 нмоль/л) и полицейских (1,49; 1,29–1,79 нмоль/л), в результате чего самая высокая концентрация  $T_3$  оказалась у комбатантов (1,56; 1,43–1,81 нмоль/л, со статистически значимым различием относительно курсантов ( $p=0,049$ ).

### Обсуждение

Проведенный сравнительный анализ секреторной функции гипофизарно-адреналового и гипофизарно-ти-

реоидного звеньев эндокринной регуляции у личного состава УМВД выявил зависимость от характера службы и степени профессиональной напряженности.

Среди комбатантов отмечено увеличение и длительное сохранение высоких концентраций в крови АКТГ и кортизола на уровнях, близких к максимальным, по отношению к пределам физиологической нормы.

Полученные нами данные согласуются с результатами исследований функционального состояния эндокринной системы у сотрудников силовых ведомств, проведенных другими авторами. Так, например, при оценке гипофизарно-адреналовой оси регуляции у сотрудников правоохранительных органов в условиях повседневной деятельности отмечено значительное повышение АКТГ и кортизола [6]. Выявлены изменения большинства гормональных показателей у сотрудников органов внутренних дел — участников боевых действий. При этом степень таких отклонений значительно выше по сравнению с сотрудниками полиции, исполнение служебных обязанностей которых происходит вне «горячих точек». Более того, повышенное содержание гормонов надпочечников после возвращения из длительной командировки у комбатантов может сохраняться еще в течение нескольких месяцев [7, 8]. Такая динамика гормональных показателей свойственна развитию адаптационного процесса, а в некоторых случаях — возникновению стресс-реакции [9]. Предполагают, что сохраняющееся увеличение содержания АКТГ и кортизола у комбатантов в течение более 4–6 мес — это один из патогенетических механизмов развития посттравматических стрессовых расстройств [10, 11].

Известна роль тиреоидного звена в обеспечении адаптации к стрессу. Увеличение содержания тироксина снижает выработку адреналовых гормонов, что препятствует развитию их гиперсекреции [12]. В нашем исследовании это подтверждено более высоким содержанием тироксина у комбатантов и увеличением такового в динамике командировки в «горячие точки». Результаты совпадают с данными литературы, согласно которым у сотрудников силовых ведомств также отмечено значительное повышение в крови тиреоидных гормонов в сравнении с лицами, не имеющими отношения к службе [13]. Более того, повышенное содержание гормонов щитовидной железы определя-



ется и длительно сохраняется у комбатантов по возвращении с территории вооруженного конфликта [14]. Однако чрезмерное увеличение концентрации АКТГ, активация секреции кортизола при длительной травмирующей ситуации приводит к замедлению выработки тироксина и значительному снижению конверсии его в трийодтиронин [15].

### Заключение

Выявленные изменения эндокринной секреторной функции могут быть одними из первых признаков нарушений межгормональных взаимодействий, приводящих к срыву адаптационного процесса, и поддержания гомеостаза в целом. Это, в свою очередь, требует разработки специальных мер по снижению развития подобных отклонений с целью увеличения сопротивляемости и жизнестойкости организма к условиям экстремальных воздействию чрезвычайных ситуаций, а также предупреждения возникновения патологических состояний.

К этим мероприятиям следует отнести:

- разумное планирование командировок в «горячие точки»;
- привлечение к работе на территориях, осложненных чрезвычайными ситуациями, специалистов после прохождения специальной подготовки (физической, психологической, медицинской, с применением при необходимости адаптогенов и т.п.);
- ранняя диагностика (в т.ч. с применением лабораторных методов) нарушений состояния здоровья лиц, подвергающихся воздействию опасных профессиональных факторов;
- проведение комплекса медико-реабилитационных мероприятий, направленных на восстановление ослабленных функций организма, по завершении выполнения задач в экстремальных условиях.

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. Kino T., Charmandari E., Chrousos G.P. Disorders of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical System. *Handbook of Neuroendocrinology*. G. Fink, D.W. Pfaff, J. Levine (eds.). USA, NY: Academic Press, 2012. P. 639–657.
2. Joffe R.T., Sokolov S.T. Thyroid hormones, the brain, and affective disorders. *J. Crit. Rev. Neurobiol.* 1994; 8 (2): 45–63.
3. Жарков Г.В. Армейская психотравма. Запрограммированные последствия службы в Российских ВС и пути их частного преодоления. *Журнал практического психолога*. 2000; 11: 193–199.
4. Artiss K. The combat soldier. *Mil-Med.* 2000; 165 (1): 33–40.
5. Wehr T. Photoperiodism in humans and other primates: Evidence and implications. *J. Biol Rhythms.* 2001; 16 (4): 348–364.
6. Колесникова Л.И., Белогоров С.Б., Долгих В.В., Тунгузов Е.И., Петрова В.А., Шолохов Л.Ф., Долгих М.И. Проксидантно-антиоксидантный статус на начальных этапах развития гипертонической болезни у курсантов военного авиационного инженерного института. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2006; 1: 122–127.
7. Половов С.Ф. Состояние здоровья молодых военнослужащих в процессе адаптации к условиям службы на Дальнем Востоке. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. *Владивосток*. 2007. 23 с.
8. Дергунов А.В., Романов К.В., Апчел В.Я. Состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в процессе профессиональной адаптации военнослужащих. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2009; 2: 59–61.
9. Пилипенко М.М. Неинвазивные иммунологические методы в контроле состояния психо-эндокринно-иммунного комплекса у лиц, подвергающихся воздействию стресса опасной работы. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. *Челябинск*. 2010. 24 с.
10. Yehuda R. Current status of cortisol findings in post-traumatic stress disorder. *Psychiatr. Clin. North Am.* 2002; 25 (2): 341–368.
11. Bremner J.D., Vythilingam M., Vermetten E., Adil J., Khan S., Nazeer A., Afzal N., McGlashan T., Elzinga B., Anderson G.M., Heninger G., Southwick S.M., Charney D.S. Cortisol response to a cognitive stress challenge in posttraumatic stress disorder (PTSD) related to childhood abuse. *Psychoneuroendocrinology*. 2003; 28 (6): 733–750.
12. Горобец Л.Н. Нейроэндокринные дисфункции и нейролептическая терапия. *М.: Медпрактика-М*. 2007. 312 с.
13. Алехина С.П., Сумная Д.Б. Адаптационная роль нейроиммунноэндокринных взаимоотношений у сотрудников Федеральной службы по контролю за оборотом наркотиков в условиях действия хронического стресса. *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия «Образование, здравоохранение, физическая культура»*. 2008; 4: 102.
14. Барабаш Л.В., Левицкий Е.Ф., Хон В.Б., Зайцев А.А. Влияние экстремальных условий на сезонные особенности эндокринно-метаболических процессов. *Клиническая медицина*. 2009; 7: 47–49.
15. Tafet G.E., Bernadini R. Psychoneuroendocrinological links between chronic stress and depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2003; 27 (6): 893–903.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**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

**Барачевский Юрий Евлампиевич**, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой мобилизационной подготовки здравоохранения и медицины катастроф СГМУ

Адрес: 163061, Архангельск, Троицкий пр-т, д. 51, тел.: +7 (8182) 24-22-65, e-mail: barje1@yandex.ru

**Иванов Андрей Михайлович**, доктор медицинских наук, профессор, начальник кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова; главный лаборант Министерства обороны РФ

Адрес: 194044, Санкт-Петербург, Пироговская наб., д. 1., тел.: +7 (812) 292-32-25, e-mail: iamvma@mail.ru

М.Т. Луценко, И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина, А.Г. Мироненко

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, Благовещенск, Российская Федерация

## Механизмы формирования гипоксии в период беременности и нарушение кровоснабжения плода при цитомегаловирусной инфекции

**Цель исследования:** изучить механизмы формирования гипоксии при беременности, ассоциированной с цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВИ). **Методы:** обследованы 30 рожениц с рецидивом ЦМВИ на сроке 25–28 нед беременности и их новорожденные. Цитохром С, Hsp-70, p53, Bcl-2 и каспазу-3 в гомогенате плаценты определяли серологическими методами, морфологию эритроцитов изучали с помощью цитофотометрии, белки мембран эритроцитов — методом диск-электрофореза, ТБК-активные продукты — по методу В.Б. Гаврилова, активность супероксиддисмутазы — спектрофотометрическим методом, 2,3-дифосфоглицериновой кислоты (2,3-ДФГ) — по методу И.С. Луганова, микровязкость мембран эритроцитов — флуориметрическим методом, оксигемоглобин и метгемоглобин — по методу Эвелина и Мэллой, деформабельность эритроцитов — по методу М.Т. Луценко. **Результаты:** в эритроцитах крови ЦМВ-серопозитивных рожениц выявлено снижение содержания белков цитоскелета:  $\alpha$ - и  $\beta$ -спектрина — в 1,14, анкирина — в 1,62 и белка полосы 4.1 — в 1,29 раза, увеличение антигенсвязывающего гликофорина — в 1,87 раза, ТБК-активных продуктов и показателей микровязкости — в 1,37 раза, снижение активности супероксиддисмутазы — в 1,35, индекса деформабельности — в 9,5, 2,3-ДФГ — в 1,22 и оксигемоглобина — в 1,06 раза. В гомогенате плаценты выявлено снижение Bcl-2 в 1,5 и Hsp-70 в 2,5 раза, увеличение p53 — в 6,1, цитохрома С — в 1,76 и каспазы-3 — в 3,86 раза. В эритроцитах крови пуповины отмечено увеличение 2,3-ДФГ в 1,3 и снижение оксигемоглобина в 1,06 раза. **Заключение:** полученные данные свидетельствуют о том, что рецидив ЦМВИ на сроке 25–28 нед беременности вызывает нарушение морфофункционального состояния эритроцитов крови матери и их способности к оксигенации, строения фетоплацентарного барьера, уменьшение кислородной обеспеченности крови плода и развитие внутриутробной гипоксии.

**Ключевые слова:** цитомегаловирус, беременность, гипоксия.  
(Вестник РАМН. 2015; 1: 106–112)

106

### Обоснование

Инфекционные заболевания, вызываемые герпесвирусами, являются одними из наиболее распространенных и обуславливают развитие чрезвычайно широкого спектра клинических проявлений. Это определяет не только медицинскую, но и огромную социальную зна-

чимось проблемы. По данным глобального клинико-эпидемиологического обследования IHMF (International Herpes Management Forum), в котором нет информации по России (по причине отсутствия у нас систематического учета заболеваемости цитомегаловирусной инфекцией), один из наименее изученных вопросов, связанных с цитомегаловирусом (ЦМВ), — это оценка реальной

M.T. Lutsenko, I.A. Andrievskaya, N.A. Ishutina, A.G. Mironenko

Far-Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration, Blagoveshchensk, Russian Federation

## Mechanisms of Hypoxia Development During Pregnancy and the Disorder of Fetus Blood Supply at Cytomegalovirus Infection

**Objective:** Our aim was to study the mechanisms of hypoxia development at pregnancy associated with cytomegalovirus infection (CMVI). **Methods:** 30 parturient women with CMVI relapse at the 25–28 weeks of pregnancy and their newborns were examined. Cytochrome C, Hsp-70, p53, Bcl-2 and caspase-3 in placenta homogenate were found out with serologic methods, the morphology of erythrocytes with cytophotometry, erythrocytes membrane proteins with disc-electrophoresis method, TBA-active products with V.B. Gavrilov's method, superoxide dismutase activity with spectrophotometry, 2,3-diphosphoglyceric acid (2.3 DPG) with I.S. Luganov's method, erythrocytes membrane microviscosity with fluorimetric method, oxyhemoglobin and methemoglobin with Evelyn and Malloy' method, and erythrocytes deformability with M.T. Lutsenko's method. **Results:** In blood erythrocytes of CMV-seropositive parturient women there was the decrease of cytoskeleton proteins:  $\alpha$ - and  $\beta$ -spectrine was 1.14 times less, ankyrin was 1.62 times less, band 4.1 protein was 1.29 times less; there was 1.87 times increase of antigen-binding glycoporphin, 1.37 times growth of TBA-active products and 1.35 times drop of superoxide dismutase activity; the deformability index was 9.5 times less, 2.3 DPG was 1.22 times less and oxyhemoglobin was 1.06 times less. In placenta homogenate Bcl-2 was 1.5 times less, Hsp-70 was 2.5 times more, p53 was 6.1 times more, cytochrome C was 1.76 times more, caspase-3 was 3.86 times more. In umbilical cord blood erythrocytes 2.3 DPG was 1.3 times more and oxyhemoglobin was 1.06 times less. **Conclusion:** The obtained data proves that CMVI relapse at 25–28 weeks of pregnancy causes the disorder of morphofunctional state of mother's blood erythrocytes and their ability to oxygenation, the development of fetoplacental barrier, the decrease of fetus oxygen blood supply and the development of intrauterine hypoxia.

**Key words:** cytomegalovirus, pregnancy, hypoxia.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 106–112)

распространенности инфекции. Так, по неполным данным сероэпидемиологических исследований, антитела к ЦМВ присутствуют у 50–95% женщин детородного возраста. При этом риск внутриутробного инфицирования при первичной форме цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) во время беременности достигает 30–50%, при реактивации инфекции — 2–5%. У 5–18% инфицированных детей отмечается манифестная врожденная ЦМВИ, характеризующаяся тяжелым течением и проявляющаяся пневмонией, гепатитом, панкреатитом, инфекционным мононуклеозом, малыми мозговыми дисфункциями и другими психоневрологическими изменениями [1]. Серологические маркеры ЦМВИ, перенесенной внутриутробно и постнатально, могут быть выявлены у 40–60% детей первых 5 лет жизни. Кроме того, внутриутробное инфицирование плода ЦМВ создает предпосылки для развития иммунологической толерантности к этому возбудителю с формированием длительной его персистенции и реактивации в постнатальном периоде.

Значимость проблемы определена и тем, что реактивации ЦМВИ во время беременности способствует изменение характера нейроэндокринных и иммунных реакций в организме женщины, которые сопровождаются формированием новых порочных кругов в цепи причинно-следственных отношений, усугубляющих течение как основного заболевания, так и патологий, преопределяющих скрытое неблагополучие развивающегося плода.

В условиях вирусной инфекции в организме беременных возникают неспецифические метаболические расстройства в виде активации процессов перекисидации липидов с накоплением свободно-радикальных продуктов, повреждающих мембрану эритроцита [2], что приводит к перераспределению электронов на мембране, вызывает конформационные изменения белков цитоскелета, гемоглобина и метаболических ферментов, изменяет диффузионные свойства мембраны. В результате происходит нарушение функциональных особенностей эритроцитов как резервуара для переноса молекул кислорода и углекислого газа в фетоплацентарной системе, что ведет к возникновению гипоксического состояния, которое осложняет течение беременности и внутриутробного развития плода. В связи с вышеизложенным изучение вопросов патогенеза гипоксии при ЦМВ-ассоциированной беременности весьма актуально, поскольку имеет важное социальное значение.

## Методы

### Дизайн исследования

В ретроспективное исследование были включены 55 рожениц на сроке гестации 37–38 нед и их 55 новорожденных.

### Критерии соответствия

Критерии включения в основную группу рожениц: лабораторно подтвержденный молекулярно-биологическими и серологическими методами исследования рецидив ЦМВИ на сроке 25–28 нед беременности, наличие в периферической крови рожениц на момент исследования титра антител класса IgG к ЦМВ 1:1600, стойкая клиническая ремиссия герпесвирусной инфекции.

К критериям исключения относили первичную ЦМВИ, обострение других воспалительных заболеваний экстрагенитальной патологии и инфекций, передающихся половым путем.

Рецидив ЦМВИ устанавливали на основании результатов комплексного исследования периферической крови: при наличии антител класса IgM или четырехкратного и более нарастания титра антител класса IgG к ЦМВ в парных сыворотках в динамике через 10 сут; при индексе avidности антител класса IgG к ЦМВ более 65%, а также в случае выявления ДНК ЦМВ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в крови, моче, в соскобах с буккального эпителия и слизистой оболочки шейки матки.

### Условия проведения

Исследование выполнено в лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких и акушерском отделении патологии беременности при ДНЦ ФПД, Городской клинической больницы г. Благовещенска. Обследованы 55 рожениц и их 55 новорожденных, из которых 30 ЦМВ-серопозитивных рожениц на сроке 37–38 нед с рецидивом ЦМВИ на сроке 25–28 нед беременности и титром антител IgG к ЦМВ на момент исследования 1:1600 (основная группа) и 25 ЦМВ-серонегативных рожениц на тех же сроках беременности (контрольная группа). Новорожденные от матерей основной и контрольной групп вошли в соответствующие группы.

### Продолжительность исследования

Работу проводили в период 2013–2014 гг.

### Исходы исследования

В качестве основного оцениваемого результата рассматривали механизмы формирования гипоксии среди рожениц с рецидивом ЦМВИ на сроке 25–28 нед беременности и титром антител IgG к ЦМВ на момент исследования 1:1600. Дополнительно изучали особенности морфофункционального состояния плаценты и процессов оксигенации эритроцитов крови сосудов пуповины новорожденных исследуемых групп.

### Методы регистрации исходов

У обследуемых рожениц взятие крови проводили из локтевой вены, у новорожденных — из вены пуповины в стандартные вакуумные пробирки с коагулянтом в количестве 5 мл для получения образцов эритроцитов. Кровь для исследования кислотно-основного состояния получали у рожениц из локтевой вены, у новорожденных — из вены пуповины непосредственно перед проведением анализа в стандартные шприцы по 0,25 мл. Для серологических исследований использовали кровь, не содержащую антикоагулянты. Выделение мононуклеарных клеток крови для ПЦР проводилось с использованием раствора фиколл-урографина плотностью 1,077 г/мл (ООО «НПО ДНК-технология», Россия). Серологические исследования проводили в парных сыворотках с интервалом 10–14 сут.

Мембраны эритроцитов получали путем моделирования гипосмотического шока по принципу G. Dodge с последующим осаждением при центрифугировании со скоростью 4000 g при температуре +4 °C в течение 10 мин.

Для получения гомогената плодovou часть плаценты (ворсинчатый хорион) срезали скальпелем небольшими пластинками площадью до 2–3 см и толщиной 1 мм. Кусочки ткани помещали в химические стаканы, содержащие 200 мл физиологического раствора, отмывали от клеток крови, перемешивали на магнитной мешалке

в течение 15 мин и подсушивали на фильтровальной бумаге. Затем ткань растирали пестиком в фарфоровой ступке и гомогенизировали до однородной массы. К полученному гомогенату добавляли физиологический раствор в объеме, равном изначальной массе ткани (1 мл физиологического раствора на 1 г). Гомогенат замораживали при  $-20^{\circ}\text{C}$  в течение суток. Затем его размораживали и центрифугировали при 1500 g при температуре  $+4^{\circ}\text{C}$  в течение 15 мин. Надосадочную жидкость разливали мелкими аликвотами и хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения иммуноферментного анализа.

Исследование белкового спектра мембран эритроцитов проводили с помощью вертикального одномерного диск-электрофореза в градиентном (7,5–10%) полиакриламидном геле в присутствии 0,1% раствора додецилсульфата натрия по модифицированной методике U. Laemmli [3]. Полипептидные зоны окрашивали в 0,1% растворе Кумасси R-250, 50% растворе спирта и 7% растворе уксусной кислоты. Идентификацию электрофореграмм проводили при длине волны 590–600 нм с помощью установки BioDocAnalyze (Германия). Концентрацию 2,3-дифосфоглицериновой кислоты (2,3-ДФГ) определяли по прописи И.А. Виноградовой, С.Ю. Багрянцевой, Г.В. Девиз [4]. Уровень оксигемоглобина и метгемоглобина оценивали по прописи Эвелина и Мэллой [5]. Содержание термостабильного и термолабильного гемоглобина измеряли по методу Н.А. Дидковского и соавт. [6]. Оценку активности супероксиддисмутазы проводили с использованием наборов RANDOX Laboratories Ltd. (Англия). Исследование кислотно-щелочного равновесия и газов крови проводили на портативном анализаторе IRMA Tru Point (США).

Липиды экстрагировали по методу Фолча [7]. Готовые экстракты разделяли на индивидуальные фракции фосфолипидов на пластинках с тонким слоем силикагеля (Woelm, Германия). Двухмерную тонкослойную хроматографию и идентификацию индивидуальных фракций фосфолипидов осуществляли по методу Ю. Кирхнера [8]. Измерение вязкости мембран эритроцитов проводили методом латеральной диффузии гидрофобного флуоресцентного зонда пирена на спектрофотометре Hitachi (Япония). Для определения вязкости липидного бислоя находили интенсивность флуоресценции пирена при длине волны возбуждения 334 нм. Длина волны мономеров — 395 нм, длина волны эксимеров — 470 нм. Для определения вязкости зоны белок-липидных контактов длина волны возбуждения была 286 нм, длина волны мономеров — 395 нм, длина волны эксимеров — 470 нм. Оценка вязкости основывается на вычислении коэффициента эксимеризации пирена ( $K_{\text{экс}} = F_{470}/F_{395}$ ), который равен отношению интенсивности флуоресценции эксимеров к интенсивности флуоресценции мономеров. Коэффициент эксимеризации находится в обратной зависимости от вязкости. ТБК-активные продукты (малоновый диальдегид) определяли общепринятым методом с применением тиобарбитуровой кислоты (ТБК) по методу В.Б. Гаврилова, А.Р. Гаврилова, Л.М. Мажуль [9].

Деформальность эритроцитов изучали путем математического анализа, разработанного М.Т. Луценко (патент № 2407452, Бюлл. «Изобретений и полезных моделей», 2012, № 28) [10]. Расчет индекса деформации эритроцитов ( $ID$ ) производили по формуле [10]:

$$ID = \frac{NS}{NV},$$

где  $N$  — число исследуемых эритроцитов,  $S$  — среднее значение площади одного эритроцита в  $\text{мкм}^2$ ,  $V$  — средний объем эритроцитов в  $\text{мкм}^3$ .

Средний объем ( $V$ ) эритроцитов рассчитывали по формуле:

$$V = Nm(Dcp)^3 \times (1 + 3k^2),$$

где  $N$  — число исследуемых эритроцитов,  $m$  — стандартное отклонение,  $Dcp$  — средний диаметр эритроцита,  $k$  — коэффициент вариации диаметра эритроцитов.

Коэффициент вариации ( $k$ ) диаметра эритроцитов рассчитывали по формуле:

$$k = \frac{m}{Dcp}.$$

В развернутом виде формула расчета  $ID$  выглядит следующим образом:

$$ID = \frac{NS}{Nm(Dcp)^3 \times (1 + 3k^2)}.$$

Все необходимые параметры для расчета  $ID$  —  $Dcp$ ,  $S$  и  $m$  — были получены автоматически путем обработки мазка периферической крови на фотометрической установке Mekos (Россия).

Для морфологических исследований плацентарный материал фиксировали на холоде в 2,5% глутаральдегиде на 0,1 M кокадилатном буфере при pH 7,4 в течение 1 ч. Далее его отмывали в соответствующем буфере с добавлением сахарозы. Последующую фиксацию проводили в 2% растворе четырехоксида осмия в течение 20–30 мин. После дегидратации в серии спиртов и ацетона образцы заливали в смесь смол аралдит и эпон-812. Полутонкие срезы толщиной 1  $\text{мкм}$  готовили на ультрамикротоме LKB-8800 (Швеция) и окрашивали толуидиновым синим. Гистохимические методы проводили на парафиновых и криостатных срезах после фиксации 4% раствором параформальдегида на фосфатном буфере (pH 7,4). Морфологическую детекцию апоптоза проводили на парафиновых срезах плаценты по метке концов фрагментов ДНК по ISEL-методу.

Готовые препараты подвергались цитофотометрическому анализу на цитофотометрической компьютерной установке Mekos (Россия).

#### Этическая экспертиза

Обследование проводили с учетом требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2008) и Правил клинической практики в Российской Федерации, утвержденных приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Работа одобрена комитетом по биомедицинской этике при ДНЦ ФПД (решение № 88 от 12.01.2015 г.) в соответствии с принципами конвенции о биомедицине и правах человека, а также общепризнанными нормами международного права. Все женщины подписали письменное информированное согласие.

#### Статистический анализ

Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA v. 6.0 (StatSoft Inc., США). Для определения достоверности различий использовали непарный параметрический критерий Стьюдента. Для определения достоверности различий в случае негауссовых распределений — непараметрические критерии Колмогорова–Смирнова

**Таблица 1.** Состав белков мембран эритроцитов периферической крови рожениц с рецидивом цитомегаловирусной инфекции на сроке 25–28 нед беременности

| Белковые фракции, % | Основная группа | Контрольная группа |
|---------------------|-----------------|--------------------|
| α-Спектрин          | 6,90±0,05*      | 7,89±0,08          |
| β-Спектрин          | 7,67±0,07*      | 8,74±0,09          |
| Анкирин             | 3,10±0,05**     | 5,01±0,07          |
| Полоса 3            | 15,25±0,18**    | 17,34±0,23         |
| Полоса 4.1          | 3,40±0,07*      | 4,38±0,08          |
| Полоса 4.2          | 7,97±0,03       | 7,25±0,12          |
| Полоса 4.5          | 11,69±0,12      | 11,34±0,05         |
| Полоса 4.9          | 8,23±0,04**     | 10,19±0,05         |
| Актин               | 9,59±0,06*      | 8,14±0,04          |
| Полоса 6            | 8,13±0,09       | 8,42±0,07          |
| Полоса 7            | 8,34±0,07**     | 6,42±0,04          |
| Гликофорин          | 9,73±0,09**     | 5,20±0,05          |

*Примечание.* \* — достоверность различий по отношению к контролю при  $p < 0,05$ ; \*\* — достоверность различий по отношению к контролю при  $p < 0,01$ .

**Таблица 2.** Содержание эритроцитов различных форм в периферической крови рожениц с рецидивом цитомегаловирусной инфекции на сроке 25–28 нед беременности

| Тип эритроцитов и морфометрические показатели | Основная группа | Контрольная группа |
|---|-----------------|--------------------|
| Дискоциты, %                                  | 63,60±2,52*     | 92,50±3,10         |
| Эхиноциты, %                                  | 6,20±0,87*      | 1,50±0,06          |
| Мишеневидные, %                               | 22,00±2,21*     | 1,00±0,03          |
| Дегенеративные формы, %                       | 8,20±0,92*      | 5,00±0,75          |

*Примечание.* \* — достоверность различий по отношению к контролю при  $p < 0,01$ .

и Манна–Уитни. Критический уровень значимости был принят за 5% (0,05). Данные представлены как среднее арифметическое (M) ± стандартная ошибка среднего арифметического (m).

## Результаты

### Участники исследования

В основную группу вошли 30 ЦМВ-серопозитивных рожениц на сроке беременности 37–38 нед с рецидивом ЦМВИ на сроке беременности 25–28 нед и титром антител IgG к ЦМВ на момент исследования 1:1600. Контрольную группу составили 25 ЦМВ-серонегативных рожениц. Новорожденные от матерей основной и контрольной групп отнесены к соответствующим группам.

Средний возраст рожениц основной группы составил 24,6±0,4 года и значимо не отличался от контрольной группы — 23,7±0,3 года ( $p > 0,05$ ).

### Основные результаты исследования

В ходе исследования выявлено нарушение белкового состава мембран эритроцитов периферической крови у рожениц основной группы по сравнению с женщинами контрольной группы (табл. 1), выраженное в статистически достоверном изменении количественного содержания основных мембранных белков и белков цитоскелета, а именно: в снижении концентраций α- и β-спектрин ( $p < 0,05$ ), анкирина ( $p < 0,01$ ), белков полос 3 и 4.1 ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$ , соответственно) при одновременном нарастании гликофорина ( $p < 0,01$ ).

При исследовании мазков периферической крови рожениц основной группы выявлено снижение процентного содержания дискоцитов ( $p < 0,01$ ) при увеличении числа эхиноцитов ( $p < 0,01$ ) и дегенеративных форм ( $p < 0,01$ ) (табл. 2).

Увеличение числа видоизмененных форм эритроцитов в периферической крови рожениц основной группы было связано с нарушением вязкостных свойств мембраны — ее относительной микровязкости, которая определялась низкими показателями флуоресценции липотропного зонда пирен, составившими 0,60±0,05 (контрольная группа — 0,82±0,09,  $p < 0,01$ ), а в зоне липид-белковых контактов — 0,86±0,08 (контрольная группа — 1,13±0,04,  $p < 0,01$ ).

Критерием роста активности мембранодестабилизирующих процессов в эритроцитах периферической крови рожениц основной группы можно считать индукцию процессов пероксидации липидов при подавлении механизмов внутриклеточной противорадикальной защиты, что проявлялось в увеличении содержания конечных продуктов дегградации жирных кислот — ТБК-активных продуктов (малонового диальдегида) до 28,15±0,97 ммоль/л (контрольная группа — 20,55±0,31 ммоль/л,  $p < 0,01$ ) и уменьшении внутриэритроцитарной супероксиддисмутазы до 230,37±2,51 Ед/г Hb (контрольная группа — 311,54±4,12 Ед/г Hb,  $p < 0,01$ ).

Выявляемое усиление процессов липопероксидации и конечных их продуктов в эритроцитах рожениц данной группы приводило к нарушению компактности липидного бислоя мембран, выраженного в снижении содержания фосфатидилэтаноламина до 21,80±1,80% (контрольная группа — 23,40±1,70%,  $p < 0,01$ ) и фосфатидилхолина до 27,60±1,3% (контрольная группа — 33,1±2,2%,  $p < 0,01$ ), тогда как уровень фосфатидилсерина, лизофосфатидилхолина и сфингомиелина увеличивался до 11,00±0,90% (контрольная группа — 4,00±0,20%,  $p < 0,01$ ), 9,90±0,58% (контрольная группа — 6,20±1,20%,  $p < 0,01$ ) и 25,30±1,30% (контрольная группа — 22,50±1,20%,  $p < 0,01$ ), соответственно.

Следует обратить внимание и на то, что в эритроцитах периферической крови рожениц основной группы имели

**Таблица 3.** Показатели 2,3-ДФГ, оксигемоглобина и  $pO_2$  в венозной крови рожениц с рецидивом цитомегаловирусной инфекции на сроке 25–28 нед беременности

| Показатели               | Основная группа | Контрольная группа |
|--------------------------|-----------------|--------------------|
| Общий 2,3-ДФГ, мкмоль/мл | 7,05±0,07*      | 5,77±0,14          |
| Оксигемоглобин, %        | 90,20±0,47*     | 95,30±0,27         |
| $pO_2$ , мм рт.ст.       | 27,60±0,70*     | 41,60±0,90         |

Примечание. \* — достоверность различий по отношению к контролю при  $p < 0,01$ .

место нарушения и в гемоглобиновой системе. Было выявлено увеличение содержания термолабильного гемоглобина до 25,86±0,78% (контрольная группа — 7,6±0,5%,  $p < 0,001$ ) и общего 2,3-ДФГ ( $p < 0,01$ ), что уменьшало кислородсвязывающую способность гемоглобина, формирование оксигенированной его формы ( $p < 0,01$ ) и насыщенность крови кислородом ( $p < 0,01$ ) (табл. 3).

Помимо нарушения формирования оксигемоглобина, эритроциты периферической крови рожениц основной группы теряют свою эластичность, что приводит к снижению их деформирующей способности и свободного проникновения в микроциркуляторное русло тканей, формируя тем самым тканевую гипоксию [11–13].

При обработке мазков крови рожениц основной группы выявлено уменьшение средней площади ( $S$ ) 80 сканированных эритроцитов ( $N$ ) до 46,78±1,67  $\mu\text{м}^2$  (контрольная группа — 78,05±2,14  $\mu\text{м}^2$ ,  $p < 0,01$ ) и среднего диаметра ( $D_{cp}$ ) до 6,77±0,11  $\mu\text{м}$  (контрольная группа — 8,77±0,15  $\mu\text{м}^2$ ,  $p < 0,01$ ). Полученное при автоматическом сканировании эритроцитов стандартное отклонение ( $m$ ) составило 3,70.

Исходя из этого, площадь объекта обсчитанных эритроцитов данной группы рожениц составила:

$$NS = 3742,4 \text{ мкм}^2.$$

Коэффициент вариации диаметра эритроцитов был равен:

$$k = \frac{m}{D_{cp}} = 0,55.$$

Объем сканированных эритроцитов соответствовал:

$$V = Nm(D_{cp})^3 \times (1 + 3k^2) = 176096,8 \text{ мкм}^3.$$

Таким образом,

$$ID = \frac{3742,4}{176096,8}.$$

Средние показатели ID в основной группе рожениц составили 0,02±0,008 усл.ед. (контрольная группа — 0,19±0,03 усл.ед.,  $p < 0,001$ ).

Исследования показывают, что у рожениц контрольной группы индекс деформации эритроцитов достоверно выше ( $p < 0,001$ ), чем у рожениц основной группы. К тому же число дегенеративных форм эритроцитов у них в 2 раза меньше, а мишеневидные эритроциты практически отсутствуют (см. табл. 2).

При изучении морфоструктуры плаценты в основной группе выявлено увеличение толщины хориального эпителия и краевого расположения сосудов, что приводило к нарушению кислороднообменных процессов, осуществляемых между кровью матери и плода. Среднее расстояние от ближайших сосудов до базальной мембраны синцитиотрофобласта в основной группе составило 3,1±0,2  $\mu\text{м}$  ( $p < 0,01$ ), в ворсинках плацент контрольной группы — 1,3±0,15  $\mu\text{м}$ .

В дополнение к морфологическим исследованиям плацент основной и контрольной группы проведены серологические исследования их тканевых гомогенатов, отражающие характер структурно-метаболических изменений большинства субклеточных структур фетоплацентарного барьера. В первую очередь, это касается цитохрома С, содержание которого в гомогенате плацент основной группы увеличивалось до 18,8±0,8  $\mu\text{г/мл}$  (контрольная группа — 10,7±0,4  $\mu\text{г/мл}$ ,  $p < 0,01$ ), что изменяло характер тканевого дыхания и утилизацию кислорода. Кроме того, имело место снижение содержания свободной фракции белка Hsp 70 до 22,30±0,90  $\text{нг/мл}$  (контрольная группа — 56,10±0,60  $\text{нг/мл}$ ,  $p < 0,01$ ), что указывало на высокую степень выраженности протеолитических процессов, повышающих вероятность появления конгломератов денатурированных белков цитозоля с Hsp-70, уменьшающих концентрацию его свободной формы. На уровне информационной системы плаценты наблюдали изменение протеолитической активности ядер. Выявлено снижение содержания в гомогенатах плацент основной группы противоапоптотического белка Bcl-2 до 28,14±0,78  $\mu\text{г/мл}$  (контрольная группа — 42,5±0,3  $\mu\text{г/мл}$ ,  $p < 0,01$ ). При этом содержание апоптогенного белка p53 в гомогенате таких плацент увеличивалось до 4,52±0,16  $\text{Ед/мл}$  (контрольная группа — 0,74±0,03  $\text{Ед/мл}$ ,  $p < 0,01$ ), что приводило к инициации каспазного комплекса, в т.ч. и каспазы-3, рост показателей которой составил 103,7±3,9  $\text{нг/мл}$  (контрольная группа — 26,7±1,5  $\text{нг/мл}$ ,  $p < 0,01$ ). Результатом выявленных изменений активности апоптогенных и противоапоптотических факторов в плаценте основной группы явилось увеличение числа ядер в состоянии апоптоза до 5,0±0,03% (контрольная группа — 1,5±0,06%,  $p < 0,01$ ).

Эти данные показывают, что структурно-метаболические нарушения клеточных структур плаценты, определяемые в основной группе, в сочетании с недостаточной насыщенностью крови матери кислородом уменьшают количество транспортируемого кислорода в кровь плода. Снижение уровня оксигемоглобина до 88,2±0,42% (контрольная группа — 93,0±0,61%,  $p < 0,01$ ) было обнаружено в крови сосудов пуповины новорожденных от матерей основной группы. При этом показатели общего 2,3-ДФГ в эритроцитах крови сосудов пуповины также были повышены до 6,51±0,10  $\mu\text{моль/мл}$  (контрольная группа — 5,0±0,12  $\mu\text{моль/мл}$ ,  $p < 0,05$ ), что изменяло кислородсвязывающую способность гемоглобина А, количество которого при рождении снижено по сравнению с фетальным гемоглобином.

### Обсуждение

Вполне очевидно, что определяющее значение в процессах формирования гипоксии и нарушении кровоснабжения плода при ЦМВ-ассоциированной беременности с рецидивом на сроке 25–28 нед имеет нарушение биофизического состояния структур, участвующих в процессах кислородного обмена и представленных в морфофункци-

ональной системе «мать—плод» эритроцитами и фетоплацентарным барьером.

Структурно-функциональные нарушения эритроцитов крови рожениц при данной патологии связаны с изменениями конформации и диффузионных свойств липид-белкового комплекса [14], выраженных уменьшением содержания основных белков цитоскелета (спектрина, анкирина, белка полосы 4.1), увеличением концентраций ТБК-активных продуктов, лизоформ фосфолипидов, снижением противокислительной активности супероксиддисмутазы, повышением микровязкости, снижением индекса деформальности клеток, и обусловлены влиянием ЦМВ на мембрану, опосредуемое через специфические гликопротеиновые рецепторы. Для эритроидных клеток такой рецептор — белок гликофорин. Его показатели в мембранах эритроцитов рожениц с рецидивом ЦМВИ на сроке 25–28 нед достоверно увеличивались, что свидетельствовало о повышенной экспрессии вируса. Это подтверждают данные о том, что наружная мембрана ЦМВ содержит белки группы gCI, gCII и gCIII, которые взаимодействуют с рецепторами на поверхности клеточной мембраны. Также показано влияние вирусного белка Gp64 на рецепторы клеточной мембраны, в т.ч. и эритроцитарного гликофорина. Слияние данного белка с наружной мембраной эритроцита приводит к изменению рН в кислую сторону, что изменяет конформационную структуру мембраны, образуя в ней поры, через которые проникают белки тегумента возбудителя, нарушающие метаболические процессы, связанные с обменом кислорода [15]. В результате в эритроцитах периферической крови рожениц с рецидивом ЦМВИ на сроке 25–28 нед беременности увеличивается концентрация термолabileного гемоглобина с измененными нативными свойствами и 2,3-ДФГ, что нарушает связь гемоглобина с кислородом и снижает насыщение крови кислородом.

Формирующийся при этом недостаток кислородного метаболизма в зоне маточно-плацентарных контактов усиливает выраженность патологических внутриклеточных обменных процессов в плаценте (увеличение содержания плацентарного цитохрома С, белка р53, каспазы-3 при снижении уровня белка Hsp 70 и Bcl-2), что усиливает апоптотические изменения ядер синцитиотрофобласта. Нарушение метаболизма ядер вызывает развитие локаль-

ного воспалительного процесса в плаценте, что приводит к нарушению перфузии ворсин, проницаемости фетоплацентарного барьера и его метаболической дисфункции [16]. Возможно, такие расстройства могут быть причиной развития микроциркуляторных расстройств в маточно-плацентарной зоне, а также более глубоких повреждений жизнеобеспечивающих систем плода, которые вызывают целый ряд взаимообусловленных патологических процессов, вызывающих структурно-функциональные нарушения циркулирующих в крови эритроцитов, снижение насыщения их кислородом, обусловленное высоким уровнем 2,3-ДФГ, что приводит к внутриутробной гипоксии плода.

### Заключение

Рецидив ЦМВИ на сроке 25–28 нед беременности оказывает повреждающее действие на структуру и ферментативные свойства эритроцитов периферической крови матери. Снижается эластичность мембран эритроцитов вследствие нарушения липид-белковых взаимодействий, что приводит к изменению их деформальности и повышенной трансформации. Нарушение связи гемоглобина с 2,3-ДФГ влечет за собой снижение насыщения кислородом периферической крови и формирование гипоксии. Одновременно в силу токсического действия внедряющегося в синцитиотрофобласт ЦМВ в цитозоле снижается содержание белка Hsp70, происходит повреждение митохондрий, что приводит к увеличению концентрации цитохрома С, снижению содержания противоапоптотического белка Bcl-2, повышению концентраций белка р53, каспазы-3, и тем самым обуславливает появление большого числа ядер синцитиотрофобласта в состоянии апоптоза. Данные факторы нарушают характер кислородного обмена между кровью матери и плода, в результате чего возникает угроза формирования внутриутробной гипоксии плода.

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. Кизак В.Я. Вирусные инфекции беременных: патология плода и новорожденных. *Кольцово*. 2004. 84 с.
2. Курманалиева З.Б., Атыханов А.О., Керимова Н.Р. ПОЛ и система антиоксидантной защиты в плазме крови у женщин с невынашиванием беременности и на фоне герпетической инфекции. *Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета*. 2007; 7(9): 88–91.
3. Маурер Г. Диск-электрофорез. М. 1971. 154 с.
4. Виноградова И.А., Багрянцева С.Ю., Девиз Г.В. Метод одновременного определения 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах. *Лабораторное дело*. 1980; 7: 424–426.
5. Биохимические методы исследования: справочник. Под ред. А.А. Покровского. М.: Медицина. 1969. 337 с.
6. Дидковский Н.А., Филиппова А.В., Идельсон Л.И. Методы диагностики гемолитических анемий, обусловленных нестабильными патологическими гемоглобинами. *Лабораторное дело*. 1971; 3: 154–159.
7. Folch J., Lees M., Sloane G.H. A method for the isolation and purification of total lipids from animals tissues. *J. Biol. Chem.* 1957; 226: 497–509.
8. Кирхер Ю. Тонкослойная хроматография. Пер. с англ. М.: Мир. 1981. С. 52–115.
9. Гаврилов В.Г., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой. *Вопросы медицинской химии*. 1987; 1: 118–121.
10. Луценко М.Т. Способ оценки нарушения деформируемости эритроцитов в периферической крови беременных при обострении в третьем триместре гестации герпесвирусной инфекции. Патент РФ № 2407452.
11. Катюхин А.Н. Реологические свойства эритроцитов. Современные методы исследования. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 1995; 81 (6): 122–189.
12. Зверко В.Л., Ракуть В.С., Зинчук В.В. Патогенетическое значение деформируемости эритроцитов в механизмах развития гестоза. *Медицинские новости*. 1999; 7: 51–52.
13. Зинчук В.В. Методика измерения деформируемости эритроцитов. *Здравоохранение Белоруссии*. 1989; 12: 97–98.
14. Ишутина Н.А., Дорофиевко Н.Н., Андриевская И.А., Довжикова И.В. Изменения микровязкости мембран эри-

- троцитов крови у беременных, инфицированных вирусом герпеса. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2006; 23: 16–17.
15. Zhaofel L., Blissard G.W. Vaculovirus Gp64 D: sulfide bonds: the intermolecular disulfide bond of Autographa californica multicapsid nucleopolyhedrovirus Gp64 is not essential for membrane fusion and virion budding. *J. Virol.* 2010; 84 (17): 8584–8595.
16. Луценко М.Т., Андриевская И.А., Довжикова И.В., Соловьева А.С. Фетоплацентарная система при обострении герпес-вирусной инфекции во время беременности. *Новосибирск*. 2010. 245 с.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Луценко Михаил Тимофеевич**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов при неспецифических заболеваниях легких ДНЦ ФПД

**Адрес:** 675000, Благовещенск, ул. Калинина, д. 22, **тел.:** +7 (4162) 77-28-15, **e-mail:** lucenkomt@mail.ru

**Андриевская Ирина Анатольевна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов при неспецифических заболеваниях легких ДНЦ ФПД

**Адрес:** 675000, Благовещенск, ул. Калинина, д. 22, **тел.:** +7 (4162) 77-28-16, **e-mail:** irina-andrievskaja@rambler.ru

**Ишутина Наталья Александровна**, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов при неспецифических заболеваниях легких ДНЦ ФПД

**Адрес:** 675000, Благовещенск, ул. Калинина, д. 22, **тел.:** +7 (4162) 77-28-16, **e-mail:** ishutina-na@mail.ru

**Мироненко Артём Григорьевич**, аспирант лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов при неспецифических заболеваниях легких ДНЦ ФПД

**Адрес:** 675000, Благовещенск, ул. Калинина, д. 22, **тел.:** +7 (4162) 77-28-16, **e-mail:** miron-mag@mail.ru



А.В. Новоселецкая<sup>1</sup>, Н.М. Киселёва<sup>2</sup>, О.В. Белова<sup>2</sup>, И.В. Зимина<sup>2</sup>, А.Н. Иноземцев<sup>1</sup>, В.Я. Арион<sup>2</sup>,  
В.И. Сергиенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Российская Федерация

<sup>2</sup> НИИ физико-химической медицины, Москва, Российская Федерация

## Влияние тимических пептидов на анальгезию, вызванную острой и подострой иммобилизацией

**Цель исследования:** изучить влияние полипептидов тимуса на болевую чувствительность и определить роль опиоидной системы в реализации анальгезии, вызванной иммобилизационным стрессом. **Методы:** исследование выполнено на самцах крыс линии Wistar в Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова. Изучено влияние пептидов тимуса — тимулина (0,15 мг/кг), фракции 5 тимозина (0,25 мкг/кг) и препарата экстракта тимуса крупного рогатого скота (ЭТ) (0,5 мг/кг) — на болевую чувствительность крыс с помощью теста отдергивания хвоста без стресса, при остром (3 ч) и подостром (12 ч) иммобилизационном стрессе. В контрольные группы были включены животные, получавшие физиологический раствор и полипептиды селезенки. По окончании тестирования снижали активность опиоидной системы налоксоном. **Результаты:** показано, что препараты тимуса увеличивают порог болевой чувствительности у интактных животных. Иммобилизационный стресс продолжительностью 3 и 12 ч на фоне пептидов тимуса вызывал менее выраженное увеличение порога болевой чувствительности, чем в контрольных группах (иммобилизация 3 ч: ЭТ —  $p=0,025$ , тимулин —  $p=0,022$ , фракция 5 тимозина —  $p=0,033$ ; иммобилизация 12 ч: ЭТ —  $p=0,034$ , тимулин —  $p=0,027$ , фракция 5 тимозина —  $p=0,036$ ). Блокатор опиоидных рецепторов налоксон (1 мг/кг) не полностью блокировал стрессвызванную анальгезию, что свидетельствовало о наличии как опиоидного, так и неопиоидного компонентов данного состояния. На фоне пептидов тимуса опиоидный компонент был менее выражен, чем в контрольных группах (ЭТ —  $p=0,031$ , тимулин —  $p=0,026$ , фракция 5 тимозина —  $p=0,029$ ). **Заключение:** предварительная активация опиоидной системы полипептидами тимуса приводит к увеличению доли неопиоидного компонента анальгезии при стрессировании и препятствует истощению опиоидной системы при иммобилизационном стрессе.

**Ключевые слова:** тимус, тимулин, тимозин, иммобилизационный стресс, анальгезия.  
(Вестник РАМН. 2015; 1: 113–117)

113

### Обоснование

В последнее время интенсивное изучение взаимодействий нервной и иммунной систем привело к созданию

нового направления исследований — нейроиммунофизиологии [1]. Показано, что иммунная система принимает активное участие в работе стресс-лимитирующей системы [2]. Центральный орган иммунной системы —

A.V. Novoseletskaya<sup>1</sup>, N.M. Kiseleva<sup>2</sup>, O.V. Belova<sup>2</sup>, I.V. Zimina<sup>2</sup>, A.N. Inozemtsev<sup>1</sup>, V.Ya. Arion<sup>2</sup>,  
V.I. Sergienko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University, Russian Federation

<sup>2</sup> Scientific Research Institute for Physical-Chemical Medicine, Moscow, Russian Federation

## The Influence of the Thymus Peptides on Analgesia Caused by Acute and Chronic Immobilization

**Objective:** Our aim was to investigate the influence of thymic polypeptides on pain sensitivity and to analyze a possible role of the opioid system in the implementation of the analgesia caused by immobilization stress. **Methods:** The study was performed on male Wistar rats at the Moscow state University named after M. V. Lomonosov. We studied effects of thymus peptides: thymuline (0.15 mg/kg), fraction 5 thymosin (0.25 microgram/kg) and cattle thymus extracted product (CTEP) (0.5 mg/kg) on pain sensitivity in rats using test «tail flick» without stress, with acute (3 h) and sub acute (12 h) immobilization stress. The comparison groups were animals treated with saline and spleen polypeptides. **Results:** It is shown that preparations of thymus increase the threshold of pain sensitivity in the intact animals. Immobilization stress duration 3 and 12 h in thymus peptides treated rats caused a less pronounced increase in pain threshold than in the control groups (immobilization stress 3 h: CTEP —  $p=0.025$ , thymuline —  $p=0.022$ , fraction 5 thymosin —  $p=0.033$ ; immobilization stress 12 h: CTEP —  $p=0.034$ , thymuline —  $p=0.027$ , fraction 5 thymosin —  $p=0.036$ ). The opioid receptor blocker naloxone (1 mg/kg) did not completely block the stress-induced analgesia, indicating the presence of both opioid and non-opioid components in this state. In thymus peptides treated rats, opioid component was less pronounced than in the control groups (CTEP —  $p=0.031$ , thymuline —  $p=0.026$ , fraction 5 thymosin —  $p=0.029$ ). **Conclusion:** Pre-activation of the opioid system by the thymus polypeptides leads to an increase in the share of non-opioid component of the stress-induced analgesia and prevents the depletion of the opioid system in immobilization stress.

**Key words:** thymus, thymulin, thymosin, immobilization stress, analgesia.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 113–117)

тимус, функция которого осуществляется с помощью гормонов и пептидов, синтезируемых этой железой. Однако известно, что при любом виде стресса, как остром, так и хроническом, происходит уменьшение размеров тимуса преимущественно за счет снижения числа тимоцитов или его жирового перерождения [3, 4]. При этом ни тимус, ни продуцируемые им полипептиды не рассматривают в качестве компонентов указанной системы, хотя известно, что между тимусом и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системой существуют теснейшие связи [5–7]. В начале 1970-х гг. из ткани тимуса удалось получить ряд иммуноактивных веществ: тимулин, фракцию 5 тимозина, экстракт тимуса крупного рогатого скота (ЭТ) и др. [8–10]. При помощи препарата ЭТ были предприняты попытки осуществить коррекцию стрессовых воздействий в различных моделях [11]. На фоне разлитого острого перитонита и ожоговой травмы у крыс, а также при подострой и хронической бензолной интоксикации полипептидный препарат не только способствовал восстановлению параметров иммунной системы, но и устранял признаки интоксикации, восстанавливая различные параметры гомеостаза [11]. В дальнейшем было показано антистрессорное действие полипептидов тимуса при эмоциональном стрессе [12]. Однако молекулярные и нейрохимические механизмы этих эффектов до сих пор остаются неизвестными.

Целью нашего исследования стало исследование влияния полипептидов тимуса на болевую чувствительность и анализ возможной роли опиоидной системы в реализации анальгезии, вызванной иммобилизационным стрессом.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено нерандомизированное перекрестное исследование. Работа выполнена на трех опытных группах животных, которым вводили различные пептиды тимуса, и двух контрольных (одной вводили физиологический раствор, второй — полипептиды селезенки). У всех животных измеряли анальгетическую активность пептидов тимуса в различных экспериментальных условиях: без стресса (фоновые значения); при остром иммобилизационном стрессе продолжительностью 3 ч; при подостром иммобилизационном стрессе продолжительностью 12 ч.

### Критерии соответствия

В опыт включали только здоровых половозрелых самцов крыс в возрасте 4 нед. Содержали животных в одинаковых условиях вивария: при стандартном световом режиме и режиме питания.

### Условия проведения

Исследование проведено в лаборатории эволюции механизмов памяти кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Эксперимент начинали в 8.00. Через 3 и 12 ч после иммобилизации проводили измерение латентного периода отдергивания хвоста у всех групп животных.

### Продолжительность исследования

Исследования проведены в осенний период (сентябрь) в течение недели. Первое измерение латентного периода отдергивания хвоста проведено у интактных животных в начале опыта; второе — после пятикратного введения веществ; третье — после трехчасовой иммобилизации;

четвертое — после двенадцатичасовой иммобилизации; пятое — после введения налоксона.

### Исходы исследования

Исходно предполагали, что иммобилизационный стресс должен увеличивать порог болевой чувствительности. Ввиду сформулированной ранее гипотезы о стресс-протекторной функции вилочковой железы ожидали увеличение порога боли у опытных животных без стресса относительно контрольных групп. Ранее на других моделях стресса было показано, что полипептиды тимуса защищают опиоидную систему от истощения [13]. Мы предположили, что при иммобилизационном стрессе ЭТ, фракция 5 тимозина и тимулин уменьшат уровень стрессвызванной анальгезии. Ожидаемые данные по основному исходу исследования получены на выборке из 10 животных каждой группы, что было достаточным для достижения заданной мощности статистического критерия ( $p < 0,05$ ), применяемого для проверки гипотезы исследования.

### Методы регистрации исходов

Анальгетическую активность пептидов тимуса оценивали с помощью теста «отдергивания хвоста». Использовали прибор (Ugo Basile, Италия), который фокусировал инфракрасное тепловое излучение на хвосте животного и автоматически выключался при отдергивании хвоста или по истечении 30 с, которые принимали за максимально возможный. Регистрацию проводили пятикратно с интервалом 5 мин.

Сначала у всех интактных животных измеряли фоновые значения порогов болевой чувствительности. На основании полученных результатов животные были разделены на 5 групп (по 10 крыс в каждой), не различающихся по порогам болевой чувствительности. Спустя 12 ч после последней инъекции веществ у животных измеряли латентный период отдергивания хвоста.

После этого животных подвергали иммобилизационному стрессу. Каждое животное помещали в проветриваемые плексигласовые цилиндры, препятствующие движению. Через 3 ч измеряли латентный период отдергивания хвоста в острой фазе иммобилизации пятикратно с интервалом 5 мин. Через 12 ч от начала иммобилизации измеряли латентный период отдергивания хвоста в фазе подострой иммобилизации в тех же условиях. Для снижения активности опиоидной системы по окончании тестирования внутривенно вводили неселективный блокатор опиоидных рецепторов налоксон — (5 $\alpha$ )-4,5-эпокси-3,14-дигидрокси-17-(2-пропенил) морфинан-6-ОН (в виде гидрохлорида, 0,4 мг/1 мл, Польша) в дозе 1 мг/кг и спустя 20 мин измеряли латентный период отдергивания хвоста.

### Этическая экспертиза

Эксперименты проводили согласно Принципам надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт РФ, ГОСТ Р 53434-2009) и положениям международной конвенции о Правилах работы с экспериментальными животными (European Communities Council Directives, 24.11.1986, 86/609/ЕЕС).

### Статистический анализ

Данные вычисляли для каждого животного при каждом измерении в виде абсолютных значений (секунды) и процентов относительно максимального значения латентного периода отдергивания хвоста (30 с) [14]. Поскольку при использовании критерия  $\chi^2$  было выяв-

лено, что не во всех группах имело место нормальное распределение значений, для выявления межгрупповых статистически значимых различий использовали непараметрический критерий Вилкоксона. Необходимый объем выборки был рассчитан исходя из ранее проведенных исследований [13, 15]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием прикладной программы STATISTICA v. 6.0 (StatSoft Inc., США).

### Результаты

#### Участники исследования

Работа была выполнена на 50 самцах крыс линии Wistar весом  $180,0 \pm 5,0$  г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при температуре  $+22-24^\circ\text{C}$ , свободном доступе к воде и пище и двенадцатичасовом цикле день / ночь. Крыс содержали в пластиковых клетках размером  $61 \times 44 \times 22$  см с решетчатой металлической крышкой по 10 особей в каждой. Животные были разделены на 5 групп: 1-я группа ( $n=10$ ) получила  $0,15$  мг/кг гормона тимуса — тимулин; 2-я ( $n=10$ ) —  $0,25$  мкг/кг препарата полипептидов тимуса — фракция 5 тимозина (Hoffman-La Roche Inc., США); 3-я ( $n=10$ ) —  $0,5$  мг/кг препарата полипептидов тимуса — ЭТ (патент № 2112523, 1998 г., патентообладатель — фирма «Илья Мечников»); 4-я ( $n=10$ ) —  $0,5$  мг/кг полипептидов селезенки, полученных в лаборатории молекулярной иммунологии и биохимии НИИ физико-химической медицины (1-я контрольная группа); 5-я ( $n=10$ ) —  $0,5$  мл физиологического раствора (2-я контрольная группа). Препараты и физиологический раствор вводили внутривентриально 1 раз в сут в течение 5 дней.

#### Основные результаты исследования

При измерении латентного периода отдергивания хвоста выявлено, что данный показатель у всех интактных животных был практически одинаков и составил

в среднем  $11 \pm 0,6$  с. Введение физиологического раствора не привело к изменению болевого порога, а введение пептидов тимуса вызвало его статистически значимое увеличение по сравнению с контрольной группой, получавшей физиологический раствор: до  $16,4 \pm 0,3$  с на фоне ЭТ ( $p=0,030$ ), до  $16,7 \pm 0,5$  — при использовании тимулина ( $p=0,016$ ) и до  $16,1 \pm 0,4$  с — на фоне фракции 5 тимозина ( $p=0,025$ ). Введение полипептидов селезенки не привело к изменению болевого порога, на что указывают результаты, аналогичные контролю.

Иммобилизационный стресс продолжительностью 3 ч привел к резкому увеличению болевого порога в контрольных группах до 46,9 и 47,3%, соответственно (рис. 1). Следует отметить, что за период 3–3,5 ч после иммобилизационного стресса болевой порог в этих группах продолжал увеличиваться — до 48,9% (физиологический раствор) и 49,2% (полипептиды селезенки).

Под действием пептидов тимуса такого резкого увеличения болевого порога, как в контрольных группах, отмечено не было. Иммобилизационный стресс продолжительностью 3 ч привел к увеличению болевого порога под воздействием ЭТ с 26,4 до 44,5%, тимулина — с 28,3 до 43,3%, фракции 5 тимозина — с 24,9 до 44,8%. За период 3–3,5 ч после иммобилизационного стресса болевой порог на фоне полипептидов тимуса снизился (см. рис. 1).

Иммобилизационный стресс продолжительностью 12 ч не привел к значимому снижению болевого порога во всех группах (рис. 2). После блокады опиоидных рецепторов наблюдали статистически значимое снижение латентного периода отдергивания хвоста в обеих контрольных группах на фоне введения физиологического раствора и полипептидов селезенки ( $p=0,034$  и  $p=0,038$ , соответственно). Введение налоксона практически не изменило порог болевой чувствительности в группах, получавших полипептиды тимуса (см. рис. 2).

Неопиоидная компонента, проявившаяся на фоне блокирования опиоидных рецепторов налоксоном, была

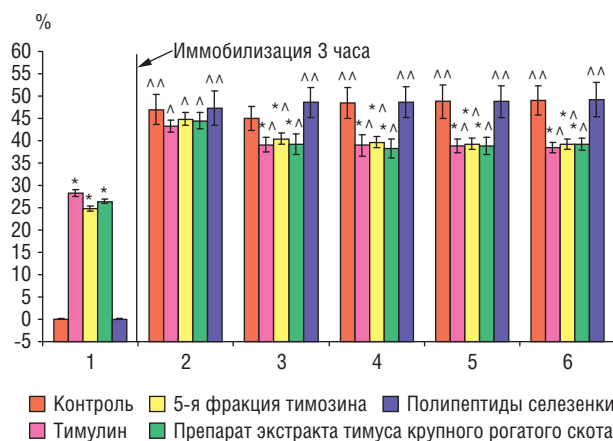


Рис. 1. Влияние тимических пептидов на анальгезию, вызванную иммобилизационным стрессом, продолжительностью 3 ч (острая иммобилизация).

Примечание. По оси абсцисс: 1 — через 12 ч после последней инъекции веществ; 2 — после 3-часовой иммобилизации; 3–6 — повторные тестирования с интервалом 5 мин. По оси ординат — латентный период отдергивания хвоста в процентах к максимально возможной величине; \* —  $p < 0,05$  в сравнении с контролем, ^ —  $p < 0,05$  в сравнении с показателем до стрессирования; ^^ —  $p < 0,001$  в сравнении с показателем до стрессирования.

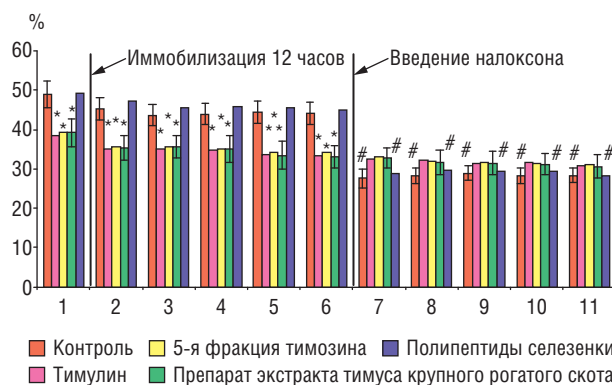


Рис. 2. Влияние тимических пептидов на анальгезию, вызванную иммобилизационным стрессом, продолжительностью 12 ч (хроническая иммобилизация).

Примечания. По оси абсцисс: 1 — через 3,5 ч после иммобилизационного стресса; 2 — через 12 ч иммобилизационного стрессирования; 3–6 — повторные тестирования с интервалом 5 мин; 7 — через 20 мин после введения налоксона; 8–11 — повторные тестирования с интервалом 5 мин. По оси ординат — латентный период отдергивания хвоста в процентах к максимально возможной величине; \* —  $p < 0,05$  в сравнении с контролем; # —  $p < 0,05$  в сравнении с показателем до введения налоксона.

одинаково выражена во всех группах, о чем говорят близкие значения латентных периодов отдергивания хвоста в обеих группах после введения налоксона (см. рис. 2).

### Обсуждение

Согласно нашим данным, введение пептидов тимуса интактным животным увеличивает порог болевой чувствительности. Этот факт согласуется с ранее полученными данными, указывающими на наличие анальгетической активности у препарата пептидов тимуса ЭТ [15]. Иммунизационный стресс вызывает увеличение порога болевой чувствительности, указывающее на возникновение стрессвызванной анальгезии во всех группах животных. Однако под воздействием пептидов тимуса увеличение доли стрессвызванной анальгезии было менее выражено, чем в группах, получавших полипептиды селезенки и физиологический раствор. Предположительно указанная меньшая доля стрессвызванной анальгезии может быть объяснена ограничением стресс-системы со стороны опиоидной системы.

Следует отметить, что после введения блокатора опиоидных рецепторов разница между латентными периодами отдергивания хвоста в контрольных и опытных группах была минимальной. Таким образом, вклад опиоидергической системы в анальгетический эффект в контрольных группах, получавших физиологический раствор и полипептиды селезенки, оказался выше, чем при введении пептидов тимуса. Наблюдаемое нами наличие слабого опиоидного компонента при стрессвызванной анальгезии ранее было отмечено на фоне тактивина после двадцатичетырехчасовой иммобилизации [13]. Мы предполагаем, что продолжительный стресс приводит к ингибированию опиоидной компоненты стрессвызванной анальгезии, препятствуя истощению опиоидной системы.

Наиболее интересным фактом, полученным в данной работе, мы считаем установление факта меньшего вовлечения опиоидного компонента стрессвызванной анальгезии на фоне пептидов тимуса. Ранее было показано, что вызываемая пептидами тимуса анальгезия у интактных животных полностью обусловлена активацией опиоидной системы. При стрессировании воздействие этих пептидов приводит к активации как опиоидного, так и неопиоидного компонента [15]. Мы предполагаем, что предварительная (до стресса) активация опиоид-

ной системы пептидами тимуса ограничивает активность стресс-системы, и поэтому уровень анальгезии при иммобилизационном стрессе не повышается столь же резко, как это происходит в контрольной группе.

Следует отметить, что при подостром иммобилизационном стрессе показанный нами уровень анальгезии на фоне пептидов тимуса как до, так и после введения налоксона оказался близким к таковому при электроболевым раздражении [13]. Таким образом, можно утверждать, что латентный период отдергивания хвоста на фоне пептидов тимуса не увеличивался при возрастании силы стрессора, как это имело место в контрольной группе. Данный факт отражает стресс-протекторную роль пептидов тимуса, которая, с одной стороны, выражается в своевременной активации стресс-лимитирующей системы в ответ на умеренный стрессор (ток), а с другой — в стабилизации уровня ее активации в ответ на сильный стрессор (иммобилизационный стресс), что может быть вызвано своевременным снижением активности стресс-лимитирующей системы, препятствующей ее чрезмерной активации. Данное предположение согласуется с литературными данными, показывающими, что опиоидная и неопиоидная формы анальгезии взаимодействуют реципрокно по принципу коллатерального торможения [16, 17], а опиоидные рецепторы принимают участие в формировании как опиоидной, так и неопиоидной форм анальгезии, вызванной стрессом [18].

### Заключение

Предварительная активация опиоидной системы пептидами тимуса (тимулин, фракция 5 тимозина, препарат экстракта тимуса крупного рогатого скота) приводит к увеличению доли неопиоидного компонента анальгезии при стрессировании, что, по-видимому, лежит в основе стресс-протекторного действия указанных пептидов и препятствует истощению опиоидной системы при иммобилизационном стрессе.

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. Пальцев М.А., Кветной И.М. Руководство по нейроиммуно-эндокринологии. М.: Медицина. 2008. 512 с.
2. Киселёва Н.М., Иноземцев А.Н. Возможная роль тимуса в работе стресс-лимитирующей системы. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2010; 3: 13–20.
3. Baatar D., Patel K., Taub D.D. The effects of ghrelin on inflammation and the immune system. *Mol. Cell Endocrinol.* 2011; 340 (1): 44–58.
4. Choi D.C., Furay A.R., Evanson N.K., Ulrich-Lai Y.M., Nguyen M.M., Ostrander M.M., Herman J.P. The role of the posterior medial bed nucleus of the stria terminalis in modulating hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis responsiveness to acute and chronic stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2008; 33 (5): 659–669.
5. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Общая патофизиология (с основами иммунопатологии). Учебник для студентов медВУЗов. СПб.: ЭЛБИ-СПб. 2005. 588 с.
6. Gruver A.L., Ventevogel M.S., Sempowski G.D. Leptin receptor is expressed in thymus medulla and leptin protects against thymic remodeling during endotoxemia-induced thymus involution. *J. Endocrinol.* 2009; 203 (1): 75–85.
7. Jiang J., Li N., Wang X., Lu Y., Bi Y., Wang W., Li X., Ning G. Aberrant expression and modification of silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptors involved in the pathogenesis of tumoral cortisol resistance. *Endocrinology*. 2010; 51 (8): 3697–3705.
8. Bach J.F., Dardenne M. Activities of immunosuppressive agents *in vitro*. I Rosette inhibition by azathioprine. *Rev. Europ. Etud clin. Boil.* 1971; 16: 770–777.
9. Кусельман А.И. Применение дерината в педиатрии. Пособие для практикующих врачей. М.-Тверь: Триада. 2008. 88 с.
10. Goldstein A.L., Badamchian M. Thymosins: chemistry and biological properties in health and disease. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2004; 4 (4): 559–573.
11. Арион В.Я., Зимица И.В., Москвина С.Н., Быстрова О.В. Тактивин — природный иммунокорректор. Клиническое

- применение. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2007; 4: 11–26.
12. Киселёва Н.М., Новоселецкая А.В., Зимина И.В. и др. Влияние тактивина на функциональное нарушение реакции избегания у крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2009; 147 (1): 75–77.
  13. Новоселецкая А.В., Матвеева О.Д., Киселёва Н.М., Иноземцев А.Н. Влияние препарата пептидов тимуса тактивина на развитие стресс-вызванной аналгезии, вызванной иммобилизацией. *Здоровье и образование в XXI веке. Сер. Медицина*. 2012; 14 (1): 227–228.
  14. South S. M., Smith M. T. Apparent insensitivity of the hotplate latency test for detection of antinociception following intraperitoneal, intravenous or intracerebroventricular M6G administration to rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998; 286 (3): 1326–1332.
  15. Иноземцев А.Н., Новоселецкая А.В., Матвеева О.Д., Аристова В.В., Калужный А.Л., Шульговский В. В., Зимина И.В., Арион В.Я. Опиоидная система участвует в реализации анальгетических эффектов тактивина. *Доклады академии наук*. 2013; 450 (5): 1–4.
  16. Yamada K., Nabeshima T. Stress-induced behavioral responses and multiple opioid systems in the brain. *Behav. Brain Res.* 1995; 67 (2): 133–145.
  17. Rubinstein M., Mogil J.S., Japón M. et al. Absence of opioid stress-induced analgesia in mice lacking beta-endorphin by site-directed mutagenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996; 93 (9): 3995–4000.
  18. Panerai A.E., Martini A., Sacerdote P. et al. Kappa-Receptor antagonist reverse ‘non-opioid’ stress-induced analgesia. *Brain Res.* 1984; 304 (1): 153–156.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Новоселецкая Анна Владимировна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кафедры высшей нервной деятельности Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

Адрес: 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, тел.: +7 (495) 939-50-01, e-mail: anna.novoseletskaya@gmail.com

**Киселёва Нина Михайловна**, доктор биологических наук, старший научный сотрудник НИИ ФХМ

Адрес: 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, тел.: +7 (495) 434-40-74, e-mail: kiseleva.67@mail.ru

**Белова Ольга Владимировна**, доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной иммунологии и биохимии НИИ ФХМ

Адрес: 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, тел.: +7 (499) 246-43-42, e-mail: olgabelova49@yandex.ru

**Зимина Ирина Васильевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИИ ФХМ

Адрес: 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, тел.: +7 (499) 246-44-38, e-mail: Yangicher@yandex.ru

**Иноземцев Анатолий Николаевич**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории эволюции механизмов памяти кафедры высшей нервной деятельности Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

Адрес: 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, тел.: +7 (495) 939-50-01, e-mail: a\_inozemtsev@mail.ru

**Арион Виталий Яковлевич**, доктор биологических наук, академик РАЕН, профессор, главный научный сотрудник НИИ ФХМ

Адрес: 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, тел.: +7 (499) 246-44-38, e-mail: VYaarion@yandex.ru

**Сергиенко Валерий Иванович**, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ ФХМ

Адрес: 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, тел.: +7 (499) 246-93-03, e-mail: olgabelova49@yandex.ru

О.Ю. Полювяная<sup>1</sup>, А.И. Левашова<sup>1</sup>, В.С. Морозова<sup>1</sup>, С.Н. Петроченко<sup>1</sup>, М.А. Мягкова<sup>1</sup>, И.А. Мосейкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка, Российская Федерация

<sup>2</sup> Российская медицинская академия последилового образования, Москва, Российская Федерация

## Уровни переносимости боли и факторы гуморального иммунитета при дорсалгии

**Цель исследования:** изучить особенности болевой чувствительности и иммунохимических показателей — естественных антител к эндогенным биорегуляторам болевого сигнала и оценить возможность применения этих показателей для более объективной диагностики болевого синдрома на примере хронической дорсалгии. **Методы:** болевую чувствительность оценивали в дневное и ночное время, измеряя пороги переносимости боли (ППБ). Содержание естественных антител к эндогенным биорегуляторам болевого сигнала (e-At) определяли в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. Измерение всех показателей проводили на 1, 10 и 21-е сут. **Результаты:** обследовано 173 пациента (93 женщины и 80 мужчин) с выраженной болью в пояснично-крестцовом отделе. При поступлении в стационар у большинства пациентов переносимость боли была снижена: у 55% мужчин и 74% женщин днем, у 72% мужчин и 89% женщин ночью. При изучении динамики ППБ обнаружена тенденция к их нормализации у мужчин. Показатели ППБ ночью были на 15–17% ниже, чем днем. У женщин ППБ были на 17–26% ниже, чем у мужчин. Анализ индивидуальных профилей содержания e-At показал, что встречаемость повышенных и высоких уровней e-At к β-эндорфину, орфанину и гистамину выше (84, 78, 84% у женщин и 82, 85 и 95% у мужчин), чем к серотонину, дофамину и ангиотензину (55, 65, 70% у женщин и 65, 66, 66% у мужчин;  $p < 0,05$ ). В результате лечения зафиксировано достоверное снижение содержания e-At только к гистамину (на 23%;  $p = 0,015$ ). **Заключение:** обнаружены патологические изменения болевой чувствительности (ППБ), факторов гуморального иммунитета (e-At) у больных дорсалгией и выявлены их гендерные и динамические особенности. Результаты свидетельствуют о необходимости пролонгированных исследований роли сдвигов иммунного статуса, болевой чувствительности для возможности использования этих показателей в качестве объективных критериев диагностики болевого синдрома.

**Ключевые слова:** дорсалгия, тензоалгометрия, порог переносимости боли, естественные антитела, регуляторы боли. (Вестник РАМН. 2015; 1: 118–124)

118

### Обоснование

Болевые синдромы, особенно хронические, представляют серьезную проблему здравоохранения. В течение жизни болью в нижней части спины страдают от 54 до 80% мирового населения [1]. Согласно эпидемиологическим исследованиям, в России хронической болью в спине страдает 57% взрослого населения, причем пик распространенности этого заболевания приходится на

наиболее работоспособный и профессионально зрелый возраст — 35–55 лет [2]. Недаром прошлое десятилетие (2000–2010 гг.) было ознаменовано проведением Декады костно-суставных болей под руководством экспертов ВОЗ, в котором одним из пяти основных направлений была выделена боль в спине [3].

Объективизация боли — одна из трудноразрешимых проблем в клинической практике врачей различных специальностей. При диагностике хронической боли и вы-

O.Yu. Polyvyanaya<sup>1</sup>, A.I. Levashova<sup>1</sup>, V.S. Morozova<sup>1</sup>, S.N. Petrochenko<sup>1</sup>, M.A. Myagkova<sup>1</sup>, I.A. Moseykin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Bioactive Substances of the Russian Academy of Science, Chernogolovka, Russian Federation

<sup>2</sup> Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russian Federation

## Dynamics of Pain Tolerance Thresholds and Humoral Immunity Factors at Dorsalgia

**Objective:** Our aim was to study the possible markers of pain syndrome — indicators of pain sensitivity — pain pressure tolerance thresholds (PPTT), and immuno-indicators — natural antibodies against pain processing mediators (eAb) for evaluation the possibility of its using for a objective pain assessment at chronic low back pain. **Methods:** Pain sensitivity was assessed daily and nightly, by measuring the PPTT. The natural antibody levels (eAb), were determined in serum by ELISA. Measurement of all parameters were performed at 1<sup>st</sup>, 10<sup>th</sup> and 21<sup>th</sup> days. **Results:** 173 patients (93 women and 80 men) with chronic low back pain were included in the study. At 1<sup>st</sup> day most patients had lowered PPTT: 55% of men and 74% during the day, 72% of men and 89% of women at night. Dynamic study has shown a tendency of PPTT normalization in men. The study of diurnal PPTT variations have shown that night PPTT lower than day PPTT on 15–17%. We found gender PPTT differences: PPTT values in women 17–26% lower than in men. Analysis of individual eAb profiles has showed that elevated and high levels of eAb to β-endorphin, orphanin and histamine have 84%, 78%, 84% women and 82% 85 and 95% men, respectively. These indicators higher than those for serotonin, dopamine and angiotensin (55%, 65%, 70% in women and 65%, 66%, 66% in men, respectively;  $p < 0.05$ ). Dynamic study of eAb levels have shown a significant anti-histamine eAbs decrease (23%;  $p = 0.015$ ) only. **Conclusion:** The pathological changes in pain sensitivity and levels of eAbs to pain-processing mediators are evidenced. Further investigations are necessary to clarify to role of these variations in pain processing and for use these indicators for objective pain assessment.

**Key words:** pain pressure tolerance thresholds, natural antibodies, pain processing mediator, low back pain.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 118–124)

боре методов лечения врачи сталкиваются с проблемой субъективности оценки болевого синдрома (БС). В частности, это связано с развитием депрессии и тревожных нарушений [4, 5]. В медицинском Центре управления боли (США) были разработаны специальные наборы критериев для идентификации несоответствия между жалобами пациента на невыносимую боль и нормальным объективным статусом, установленным двумя и более врачами [6].

Один из способов объективизации БС — метод тензоалгометрии [7], в котором в качестве аллогенного стимула используют давление. При применении этого метода были получены более воспроизводимые и клинически значимые результаты [8] по сравнению с распространенными субъективными методами оценки боли, такими как визуальная аналоговая шкала (ВАШ), цифровая рейтинговая шкала, категориальная вербальная шкала [9]. Измерение тензоалгометрических порогов боли (ТПБ) позволяет успешно оценить степень хронизации болевого синдрома, обусловленного периферической и центральной сенситизацией. Установлено, что ТПБ могут быть диагностическими маркерами при таких заболеваниях, как эпизодическая и хроническая мигрень [10], хроническая головная боль напряжения [11], хроническая тазовая боль, имеющая характер миофасциального болевого синдрома [12], хроническая боль в спине [13, 14], хроническая боль при патологии шейного отдела позвоночника [15] и др. У пациентов с хронической болью этот порог, как правило, снижен и при адекватном лечении повышается. Информативным, но пока мало применяемым параметром тензоалгометрии является порог переносимости боли (ППБ) — наибольший уровень боли, которую субъект в состоянии переносить [7, 13, 16].

Другой способ объективизации оценки БС — это измерение содержания различных веществ, участвующих в регуляции болевого сигнала. В настоящее время идет поиск различных биологических маркеров разных видов хронической боли [17]. Среди них можно выделить группу маркеров-регуляторов, принадлежащих иммунной системе [18]. В частности, исследование таких факторов гуморального иммунитета, как естественные антитела (e-Ат), направленные к медиаторам боли, показало, что у пациентов с хронической болью в спине содержание этих антител достоверно повышено по сравнению с данными показателями у людей без боли в спине [19].

Целью настоящего исследования было изучение у больных дорсопатией характеристик, влияющих на развитие болевого синдрома, которые могут иметь диагностическое значение, таких как пороги переносимости боли и содержание e-Ат к медиаторам, регулирующим болевое восприятие, с возможностью дальнейшего их применения как методов объективной оценки БС.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено квазирандомизированное контролируемое исследование.

### Критерии соответствия

В исследование включали пациентов с выраженной болью в пояснично-крестцовом отделе при отсутствии тяжелых сопутствующих соматических, неврологических или психических заболеваний. Критериями исключения были наличие объемных образований, системные заболевания (болезнь Бехтерева и т.д.), инфекционные заболевания, травмы.

### Условия проведения

Обследование проводили на базе неврологического отделения городской клинической больницы им. Боткина.

### Продолжительность исследования

Исследование проводили в течение 21 сут.

### Исходы исследования

По результатам тензоалгометрии пациенты были разделены в соответствии с показателями ППБ на следующие группы: с низкой (<20,9 у.е.), средней (21–30,9 у.е.), хорошей (31–40,1 у.е.) и очень хорошей (≥41 у.е.) степенью переносимости экспериментально вызванной боли. Измерение ППБ проводили как в дневное, так и ночное время, поскольку время суток влияет на восприятие боли.

По результатам ИФА для антител каждой специфичности пациенты были распределены по четырем группам в зависимости от содержания e-Ат: 1-я группа — с пониженным (ниже порога  $X_{cp} - \sigma$ ); 2-я группа — с нормальным ( $X_{cp} \pm \sigma$ ); 3-я группа — с повышенным (от  $X_{cp} + \sigma$  до  $X_{cp} + 3\sigma$ ); 4-я — с высоким (выше  $X_{cp} + 3\sigma$ ).

### Методы регистрации исходов

Оценку болевой чувствительности проводили методом, разработанным на кафедре рефлексологии и мануальной терапии РМАПО [14], сущность которого состоит в том, что на область предплечья устанавливают накладку с вмонтированными в нее пластиковыми заостренными зубцами, поверх которой накладывают манжету тонометра с последующим нагнетанием воздуха до достижения выраженных болевых ощущений. Нагнетание воздуха прекращают по команде пациента и выпускают его из манжеты. Момент достижения выраженных болевых ощущений принимают за порог непереносимости боли, фиксируя при этом значения давления на манометре и уровень боли на ВАШ, отмеченный пациентом. Значение ППБ определяют как соотношение величины зафиксированного на манометре давления к уровню боли на ВАШ в условных единицах (у.е.).

Определение содержания e-Ат к исследуемым эндогенным биорегуляторам в сыворотке крови больных проводили методом ИФА [19], по результатам которого рассчитывали среднее значение ( $X_{cp}$ ) и среднеквадратичное отклонение ( $\sigma$ ) по данным здоровых людей для каждого эндогенного биорегулятора (ЭБ).

### Этическая экспертиза

От каждого обследуемого было получено «Информированное согласие пациента на лечебную (диагностическую) манипуляцию (процедуру)» (Приложение №6-А к Распоряжению Департамента здравоохранения от 14.04.2006 г. № 260-р).

### Статистический анализ

Статистический анализ данных проводили с помощью программы STATISTICA v. 6.0 (StatSoft Inc., США) и SPSS Statistics Base v. 19 (IBM, США). Для оценки эмпирических распределений полученных данных использовали критерий нормальности. В случае нормального распределения признаков значимость их различий в группах определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Для распределений, отличающихся от нормального, использовали таблицы сопряженности с применением критерия  $\chi^2$  Пирсона. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты**

**Участники исследования**

В исследование были включены 173 пациента, из них 93 женщины и 80 мужчин в возрасте от 16 до 72 (средний возраст  $46,5 \pm 11,7$ ) лет с хронической дорсалгией вертебрального генеза. Группу сравнения составили 36 человек без болевого синдрома (17 женщин и 19 мужчин) в возрасте от 22 до 58 (средний возраст  $38 \pm 9$ ) лет.

Предварительный анализ данных показал значительные половые различия, в связи с чем мужскую и женскую группы изучали раздельно. В комплексном базовом лечении использовали следующую терапевтическую схему: в течение 5–7 сут — диклофенак 3 мл внутримышечно, затем в течение 14 сут — таблетированные формы диклофенака 75 мг 1 раз/сут после еды, толперизона 50 мг 3 раза/сут и витамина В<sub>12</sub> 1000 мкг 1 раз/сут. Впоследствии лечение продолжали толперизоном и витамином В<sub>12</sub> в тех же дозировках.

**Основные результаты исследования**

Полученные данные тензоалгометрии, распределенные по группам, представлены на рис. 1, 2. В целом большинство пациентов при поступлении в стационар имели низкую степень переносимости боли (1-я группа) как днем (55% мужчин и 74% женщин), так и ночью (72% мужчин и 89% женщин).

Сравнение ППБ по гендерному признаку (1-й день) показало, что женщины хуже переносят боль, чем мужчины. Так, при сравнении дневных ППБ было обнаружено, что женщин с плохой и нормальной переносимостью боли (1 и 2-я группы) больше, чем мужчин, на 19 и 4%, соответственно, а женщин с хорошей и очень хорошей переносимостью боли (3 и 4-я группы) — меньше, чем мужчин, на 9 и 6%, соответственно. Сравнение ночных показателей ППБ показало, что подавляющее большинство женщин (89%) плохо переносит боль — в 1-й группе их было на 17% больше, чем мужчин. Во 2 и 3-й группах мужчины преобладали на 11 и 6%, соответственно. В 4-й группе мужчин и женщин было поровну — по 1%. Таким образом, у женщин обнаружена тенденция к более низкой переносимости боли, чем у мужчин, как днем, так и ночью, поскольку разница показателей ППБ между мужчинами и женщинами в 1-й группе составила 17% днем и 15% ночью.

Сравнение дневных и ночных значений ППБ показало, что ночью боль переносяли хуже пациенты в обеих гендерных группах: доля женщин с низкими ППБ (1-я группа) возросла ночью на 15%, мужчин — на 17%, тогда как во 2-й и 3-й группах данный показатель снизился у мужчин на 6% в каждой из них, а у женщин на 13 и 3%, соответственно.

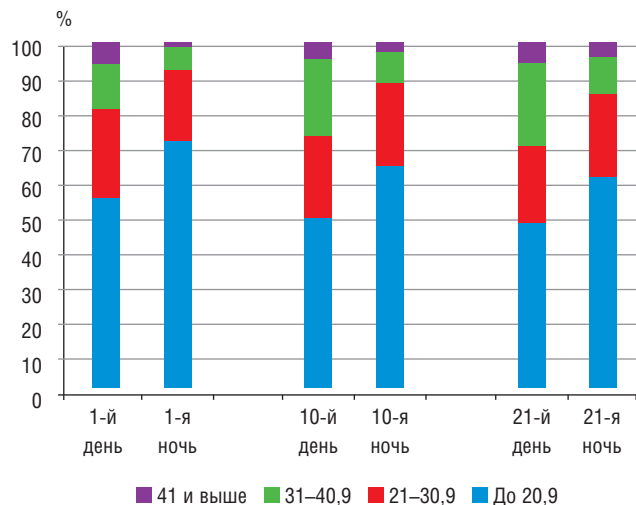
В результате лечения у мужчин медианные значения дневных и ночных ППБ повысились на 8 и 16%, соответственно (статистически одинаково, различия не достигали степени достоверности;  $p = 0,15$ ). При анализе динамики болевой чувствительности было обнаружено, что доля мужчин с плохой переносимостью ночной боли снизилась на 11%, а в группах со средней, хорошей и очень хорошей переносимостью повысилась на 4, 4 и 3%, соответственно. В женской группе изменений ППБ не обнаружено.

Результаты определения содержания е-Ат, обобщенные по четырем группам (пониженная, нормальная, повышенная и высокая их концентрация), полученные в 1-й день обследования, представлены на рис. 3.

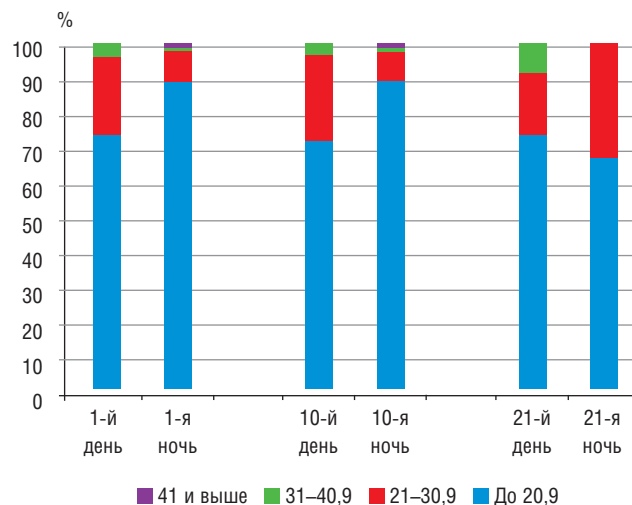
Среди исследуемых е-Ат наибольшая встречаемость повышенных и высоких концентраций установлена для е-Ат к опиатам: к β-эндорфину (84% женщин и 82% мужчин) и орфанину (78% женщин и 85% мужчин), а также к гистамину (84% женщин и 95% мужчин). Для е-Ат к серотонину, дофамину и ангиотензину встречаемость у пациентов их высоких и повышенных уровней была достоверно ниже и составила 55, 65 и 70% у женщин и 65, 66 и 66% у мужчин, соответственно ( $p < 0,05$ ).

Сравнение показателей численности пациентов в группах с высоким содержанием е-Ат позволило установить, что достоверно большее число женщин имеют высокие уровни е-Ат к опиатам — β-эндорфину (53%) и орфанину (56%) — по сравнению с аналогичными показателями для серотонина (22%;  $p < 0,0001$ ), дофамина (30%;  $p = 0,0023$ ) и ангиотензина (19%;  $p < 0,0001$ ).

Такая же особенность иммунного ответа наблюдалась у обследуемых мужчин: встречаемость высоких уровней е-Ат к β-эндорфину составила 41%, что достоверно больше показателей для серотонина (20%;  $p = 0,007$ ) и ангиотензина (10%;  $p < 0,0001$ ). С другой стороны, число пациентов с высоким содержанием е-Ат к орфанину было почти в 2 раза ниже (26%), что явилось

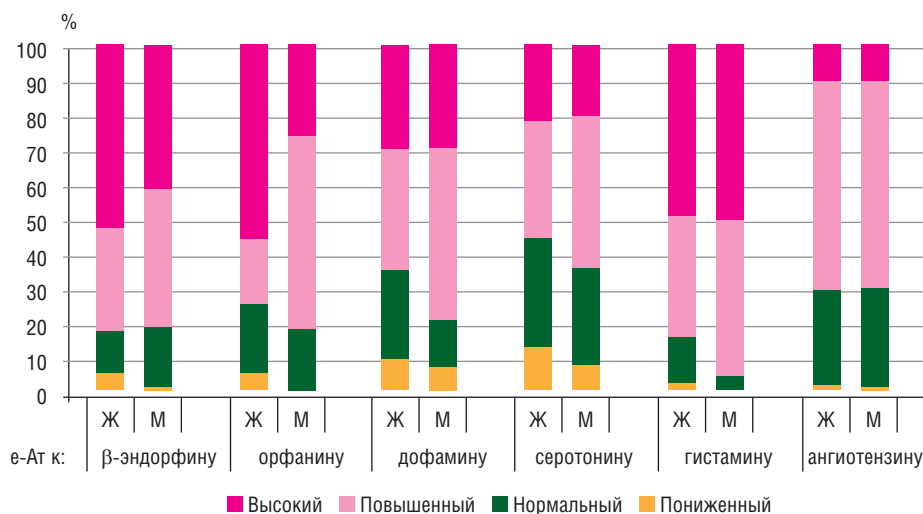


**Рис. 1.** Динамика дневного и ночного уровня переносимости боли в группе мужчин.



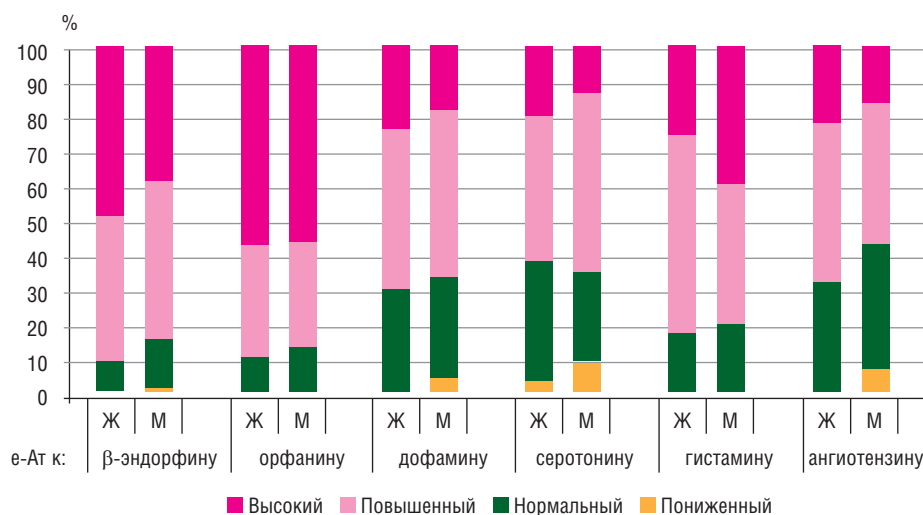
**Рис. 2.** Динамика дневного и ночного уровня переносимости боли в группе женщин.





**Рис. 3.** Распределение пациентов, страдающих хронической дорсалгией, по группам с высокими, повышенными, нормальными и пониженными значениями е-Ат в 1-й день лечения.

Примечание. Здесь и на рис. 4. М — мужчины, Ж — женщины.



**Рис. 4.** Распределение пациентов, страдающих хронической дорсалгией, по группам с высокими, повышенными, нормальными и пониженными значениями е-Ат в 21-й день лечения.

отличительной особенностью от аналогичного иммунного ответа у женщин.

При сравнении числа пациентов с пониженными уровнями е-Ат была обнаружена тенденция более выраженного ответа антител к орфанину, чем е-Ат к β-эндорфину, как у мужчин, так и у женщин. Так, число пациентов в группе высоких концентраций е-Ат к орфанину было больше на 18 и 8% (в мужской и женской группах, соответственно), чем в группе высоких концентраций е-Ат к β-эндорфину. У 2–14% женщин и 1–8% мужчин также имело место пониженное содержание е-Ат к панели исследуемых эндогенных биорегуляторов по сравнению с нормой. В этой группе наибольшие показатели были установлены для е-Ат к серотонину и дофамину.

Для выявления динамики содержания е-Ат в связи с регрессом БС были определены уровни е-Ат на 21-й день лечения, и построены их общие профили (рис. 4). Оказалось, что у женщин частота выявления пониженных концентраций всех исследуемых е-Ат снизилась, т.е. у этих пациентов содержание е-Ат вернулось к норме,

а у мужчин — не изменилось или возросло незначительно (на 2–6%).

Встречаемость патологически высоких концентраций исследуемых е-Ат у женщин достоверно не изменилась, за исключением е-Ат к гистамину (показатель достоверно снизился на 23,1%;  $p = 0,015$ ). Изучение динамики содержания е-Ат у мужчин установило отсутствие изменений, что связано, по-видимому, с долговременным характером развертывания иммунных реакций. Исключением было достоверное повышение (на 31%;  $p = 0,003$ ) показателя в группе высоких концентраций е-Ат против орфанина.

Была изучена связь показателей переносимости боли и уровней е-Ат к исследуемым эндогенным биорегуляторам. Результаты представлены в табл. Выявлены отрицательные корреляции средней силы между болевыми пороговыми и уровнями е-Ат к опиатам у мужчин в 1, 10 и 21-е сут обследования. Также обнаружены положительные корреляции между ППБ и содержанием е-Ат к биогенным аминам (дофамину и серотонину) у всех пациентов при поступлении в стационар.

Таблица. Корреляции между показателями ППБ и содержанием е-Ат у пациентов с хронической дорсалгией

| е-Ат           | ППБ     | Коэффициент корреляции Спирмена |           |           |          |           |           |
|----------------|---------|---------------------------------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|
|                |         | Мужчины                         |           |           | Женщины  |           |           |
|                |         | 1-й день                        | 10-й день | 21-й день | 1-й день | 10-й день | 21-й день |
| К β-эндорфину  | Дневной | –                               | -0,41     | -0,39     | –        | –         | –         |
|                | Ночной  | -0,31                           | –         | -0,40     | –        | –         | –         |
| К орфанину     | Дневной | -0,28                           | -0,38     | -0,39     | –        | –         | –         |
|                | Ночной  | -0,36                           | -0,29     | -0,51     | –        | –         | –         |
| К дофамину     | Дневной | 0,25                            | 0,32      | –         | 0,35     | –         | 0,35      |
|                | Ночной  | 0,29                            | –         | –         | 0,43     | 0,34      | –         |
| К серотонину   | Дневной | 0,31                            | –         | –         | 0,26     | –         | –         |
|                | Ночной  | 0,36                            | –         | –         | 0,41     | 0,27      | –         |
| К гистамину    | Дневной | –                               | –         | –         | –        | –         | –         |
|                | Ночной  | –                               | –         | –         | –        | –         | –         |
| К ангиотензину | Дневной | 0,26                            | 0,24      | –         | 0,27     | –         | –         |
|                | Ночной  | –                               | –         | –         | 0,34     | –         | –         |

### Обсуждение

При хронической боли жалобы пациента могут не соответствовать его объективному болевому статусу. Для выявления ноцицептивной составляющей в формировании болевого восприятия применяют различные критерии, разрабатывают методы количественной оценки боли. Известно, что тензоалгометрия — хороший субъективно-объективный метод определения болевой чувствительности, которая коррелирует с выраженностью хронической боли [15]. Доказано, что у пациентов с хронической болью порог возникновения болевых ощущений, как правило, снижен [7]. В данной работе мы применяли оригинальную методику [16], по которой определяли порог максимальной переносимости болевого воздействия, а не порог возникновения боли, как это часто бывает на практике, и предполагали, что он также будет снижен [20]. Полученные нами данные подтвердили предположения — ППБ были снижены изначально. Кроме того, оказалось, что женщины хуже переносят боль, чем мужчины. Такие гендерные тенденции согласуются с литературными данными о восприятии боли [20–22]. Это связывают с низкой активностью антиноцицептивных механизмов у женщин.

По данным одной из публикаций [13], у пациентов, страдающих дорсалгией, в результате лечения отмечено достоверное повышение изначально сниженных ТПБ. В наших исследованиях динамики дневных и ночных ППБ также была выявлена тенденция к нормализации порогов боли, однако только в мужской группе. Последний факт может быть связан с ролью центральных механизмов в развитии хронической боли.

Клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в развитии хронических БС важную роль играют нейроиммунные взаимодействия, вызывающие патологические изменения содержания различных факторов иммунитета в крови [18]. Наше исследование содержания е-Ат к эндогенным медиаторам, регулирующим болевое восприятие, показало, что пациенты, страдающие выраженным БС, имеют различные индивидуальные профили содержания е-Ат, т.е. у больных были отмечены различные соотношения концентраций исследуемых е-Ат. Установлено, что у большинства обследуемых пациентов имело место отклонение концентраций е-Ат от нормы в сторону повышения их содержания в сыворотке крови. Это явление, по-видимому, связано с длительной выработкой эндогенных биорегуляторов в ответ на персистирующий болевой импульс.

Выявленный более выраженный антиопиатный ответ у женщин, по-видимому, связан с более глубокими патологическими сдвигами в их опиоидергической системе — главной системе подавления болевого сигнала. Изменение этого показателя, возможно, может служить маркером степени хронизации БС. Выявленные высокие концентрации е-Ат к гистамину, вероятно, отражают интенсивную работу ноцицептивной системы [17]. Отсутствие выраженного иммунного ответа на серотонин и дофамин, вероятно, указывает на недостаточную работу моноаминовой системы, действие которой тесно связано с депрессивными симптомами при хронической боли [23].

Выявленное в настоящей работе длительное подержание высоких концентраций е-Ат к β-эндорфину и орфанину может говорить о патогенетической роли е-Ат к опиатам в сохранении опиоид-дефицитзависимого состояния хронической боли, что согласуется с отсутствием наблюдаемого через 21 день достоверного восстановления болевой чувствительности.

Корреляционный анализ показал статистически значимую прямую связь количественного содержания антител к биогенным аминам (серотонину и дофамину) с показателями уровня переносимости боли как в группе мужчин, так и в группе женщин. Можно предположить, что хронический болевой синдром вызывает истощение моноаминергической системы [23], что приводит к наблюдаемому длительному снижению ППБ и заниженному содержанию е-Ат к серотонину и дофамину.

Напротив, установленные обратные зависимости показателей ППБ и содержания е-Ат против опиатов могут указывать на возобновление интенсивной работы опиоидергической системы — главной системы периферической антиноцицепции: у мужчин данная система активно включилась в работу, а именно в подавление БС на фоне лечения.

Отсутствие нормализации концентраций е-Ат к опиатам в женской группе может отражать стойкий переход на новый патологический уровень активности соответствующих антителопродуцирующих клеток. По-видимому, хроническая боль вызывает глубокую дисрегуляцию на гуморальном уровне.

Это приводит к тому, что несмотря на достоверное уменьшение выраженности боли, концентрации е-Ат остаются патологически высокими и могут влиять на пролонгирование БС. Наблюдаемое истощение систем биогенных аминов, по-видимому, приводит к снижению переносимости боли у пациентов с низким содержанием

ем соответствующих е-Ат. В процессе лечения происходит медленное повышение ППБ, а патологические концентрации е-Ат циркулируют в крови еще длительное время.

### Заключение

В данном исследовании впервые проведено изучение ППБ и показателей гуморального иммунитета при хронической боли в спине. В результате исследования установлено, что при хронической дорсалгии ППБ снижены, имеют гендерную зависимость, а также обусловлены временем суток. Профили содержания естествен-

ных антител к эндогенным биорегуляторам болевого сигнала специфичны: наиболее выраженные отклонения зафиксированы у женщин и они наименее подвержены положительной динамике. Дальнейшие исследования позволят выявить диагностическую значимость исследованных параметров в качестве критериев объективной оценки болевого синдрома при различных патологиях.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Эрдес Ш.Ф., Дубинина Т.В., Галушко Е.А. Боли в нижней части спины в общеклинической практике. *Терапевтический архив*. 2008; 5: 59–61.
2. Яхно Н.Н., Кукушкин М.Л., Давыдов О.С., Данилов А.Б., Амелин А.В., Куликов С.М. Результаты российского эпидемиологического исследования распространенности нейропатической боли, ее причин и характеристик в популяции амбулаторных больных, обратившихся к врачу-неврологу. *Боль*. 2008; 3: 24–32.
3. Насонова В.А. Международная декада, посвященная костно-суставным нарушениям (The Bone and Joint Decade 2000–2010). *РМЖ*. 2000; 9: 2–4.
4. Камчатов П.Р. Современные подходы к ведению больных с болью в спине. *Consilium medicum*. 2004; 8: 557–561.
5. Currie S.R., Wang J. Chronic back pain and major depression in the general Canadian population. *Pain*. 2004; 107 (1–2): 54–60.
6. Jensen I.B., Bodin L., Ljungqvist T., Gunnar Bergstrom K., Nygren A. Assessing the needs of patients in pain: a matter of opinion? *Spine*. 2000; 25 (21): 2816–2823.
7. Василенко А.М. Тензоалгометрия. Боль и ее лечение. URL: <http://www.painstudy.ru/matls/review/tenzo.htm> (дата обращения: 11.10.2014).
8. Василенко А.М., Бугровецкая О.Г., Юров В.В., Стецюра О.А. Динамическое исследование порогов боли при мануальной терапии дисфункции височно-нижнечелюстного сустава. *Мануальная терапия*. 2006; 2: 75–79.
9. Williamson A., Hoggart B. Pain: a review of three commonly used pain rating scales. *J. Clin. Nurs*. 2005; 14 (7): 798–804.
10. Grossi D.B., Chaves T.C., Gonçalves M.C. Moreira V.C., Canonica A.C., Florencio L.L., Bordini C.A., Speciali J.G., Bigal M.E. Pressure pain threshold in the craniocervical muscles of women with episodic and chronic migraine: a controlled study. *Arq. Neuropsiquiatr*. 2011; 69 (4): 607–612.
11. Fernandez de las Peñas C., Cuadrado M.L., Arendt-Nielsen L., Ge H.Y., Pareja J.A. Increased pericranial tenderness, decreased pressure pain threshold, and headache clinical parameters in chronic tension-type headache patients. *Clin. J. Pain*. 2007; 23: 346–352.
12. Fenton B.W., Palmieri P.A., Durner C., Fanning J. Quantification of abdominal wall pain using pain pressure threshold algometry in patients with chronic pelvic pain. *Clin. J. Pain*. 2009; 25 (6): 500–505.
13. Müller-Schwefe G.H., Uberall M.A. Analgesic and muscle tonus normalizing effect of flupirtine retard in chronic back pain. Results of a standardized therapeutic evaluation applying objective methods for measuring pain pressure threshold, pain pressure tolerance and muscle tension. *MMW Fortschr. Med*. 2008; 149 (4): 153–161.
14. Paungmali A., Silitertpisan P., Taneyhill K., Pirunsan U., Uthaikhup S. Reliability of pain intensity, tissue blood flow, thermal pain threshold, pressure pain threshold and lumbo pelvic stability tests in subjects with low back pain. *Asian J. Sports Med*. 2012; 3 (1): 8–14.
15. Börsbo B., Liedberg G.M., Wallin M., Gerdle B. Subgroups based on thermal and pressure pain thresholds in women with chronic whiplash display differences in clinical presentation an explorative study. *J. Pain Res*. 2012; 5: 511–521.
16. Мосейкин И.А. Патент № 2414846. Способ оценки степени переносимости боли [Электронный ресурс]. Действ. с 18.11.2009. М. 2009. URL: <http://www.findpatent.ru/patent/241/2414846.html>
17. Sibille K.T., Langae T., Burkley B. Gong Y., Glover T.L., King Ch. et al. Chronic pain, perceived stress, and cellular aging: an exploratory study. *Mol. Pain*. 2012; 1: 8–12.
18. Евсеев В.А., Игонькина С.И., Ветрилэ Л.А. Иммунологические аспекты патологической боли. *Вестник РАМН*. 2003; 6: 12–16.
19. Левашова А.И., Польшаная О.Ю., Морозова В.С., Петроченко С.Н., Мягкова М.А., Мосейкин И.А. Сравнительный анализ интенсивности болевого синдрома и иммунохимических показателей — уровней естественных антител у больных хронической дорсалгией. *Биологические мембраны*. 2014; 31 (3): 1–8.
20. Данилов А.Б., Данилов А.Б., Голубев В.Л. Влияние гендера на болевой порог мужчин и женщин при мигрени без ауры. *Интернет-журнал «Головная боль»*. URL: <http://www.headachejournal.ru/no10/07.htm>
21. Голубев В.Л., Вейн А.М., Данилов А.Б. Гендер и боль. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2005; 10: 72–74.
22. Yu J., Lou G.D., Yue J.X., Tang Y.Y., Hou W.W., Shou W.T., Ohtsu H., Zhang S.H., Chen Z. Effects of histamine on spontaneous neuropathic pain induced by peripheral axotomy. *Neurosci. Bull*. 2006; 29 (3): 261–269.
23. Вознесенская Т.Г. Хроническая боль и депрессия. *Фарматека*. 2008; 6: 10–15.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Польшаная Оксана Юрьевна, младший научный сотрудник ИФВ РАН

Адрес: 142432, Московская обл., Черноголовка, Северный пр-д, д. 1, тел.: +7 (495) 673-36-57,

e-mail: polivanaya.oksana@gmail.com

**Левашова Анна Игоревна**, кандидат химических наук, научный сотрудник ИФАВ РАН

**Адрес:** 142432, Московская обл., Черноголовка, Северный пр-д, д. 1, **тел.:** +7 (495) 673-36-57,

**e-mail:** annalevashpva3@gmail.com

**Морозова Виталия Сергеевна**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник ИФАВ РАН

**Адрес:** 142432, Московская обл., Черноголовка, Северный пр-д, д. 1, **тел.:** +7 (495) 673-36-57,

**e-mail:** vmorozova@gmail.com

**Петроченко Светлана Николаевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ИФАВ РАН

**Адрес:** 142432, Московская обл., Черноголовка, Северный пр-д, д. 1, **тел.:** +7 (495) 673-36-57,

**e-mail:** petrochenko.svet@mail.ru

**Мягкова Марина Александровна**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией ИФАВ РАН

**Адрес:** 142432, Московская обл., Черноголовка, Северный пр-д, д. 1, **тел.:** +7 (495) 673-36-57,

**e-mail:** m.a.myagkova@gmail.com

**Мосейкин Илья Александрович**, кандидат медицинских наук, ассистент РМАПО

**Адрес:** 123995, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, **тел.:** +7 (499) 252-21-04, **e-mail:** idoctor1@mail.ru



## Вадим Валентинович Покровский

17 января исполнилось 60 лет со дня рождения академика РАН, ведущего российского ученого, посвятившего более четверти века своей научной деятельности проблемам ВИЧ-инфекции и СПИДа, профессора Вадима Валентиновича Покровского.

Вся деятельность В.В. Покровского связана с Центральным НИИ эпидемиологии, где он трудится с 1978 г. В конце 70-х — начале 80-х гг. прошлого века В.В. Покровский получил образцовую подготовку квалифицированного советского специалиста в области борьбы с инфекционными заболеваниями — инфекциониста, эпидемиолога и иммунолога. Со студенческой скамьи он работал в медицинском реферативном журнале, знакомящим советского читателя с новостями зарубежной медицинской науки. Свою первую большую статью Вадим Валентинович посвятил описанию только что обнаруженной вспышки лихорадки Эбола. В этот же период молодой ученый опубликовал несколько оригинальных статей по патогенезу малярии.

В начале 80-х гг. В.В. Покровский под руководством выдающегося химика академика Н.К. Кочеткова участвовал в создании первой в мире полностью искусственной, то есть синтезированной из низкомолекулярных соединений, вакцины, имитирующей О-антигена сальмонелл. Результаты этого исследования, обобщенные в кандидатской диссертации «Иммунобиологические свойства искусственных О-антигенов сальмонелл», до сих пор представляют теоретический интерес.

В связи с неожиданно возникшей в 80-е гг. угрозой распространения синдрома приобретенного иммунодефицита В.В. Покровскому как молодому специалисту, обладавшему наиболее разносторонней подготовкой, было поручено оценить риски проникновения этого заболевания в СССР. После длительных исследований ученому удалось обнаружить первого больного СПИДом иностранца (в 1985 г.), а затем и российского гражданина (в 1987 г.). Так, было продемонстрировано, как ВИЧ проникает на территорию Российской Федерации — с иностранцами и российскими гражданами, работавшими за рубежом. В дальнейшем были раскрыты действующие и потенциальные механизмы распространения ВИЧ среди российских граждан. В 1989 г. В.В. Покровским впервые в мире была «расшифрована» внутрибольничная вспышка ВИЧ-инфекции на юге России (Элиста-Ростов-Волгоград), в том числе описана передача ВИЧ ребенку от инфицированной матери, кормящей грудью. В результате проделанной работы были не только ликвидированы внутрибольничные вспышки ВИЧ-инфекции, но и усо-

вершенствованы противоэпидемические мероприятия во всех лечебных учреждениях России, приведшие к снижению числа случаев внутрибольничного заражения всеми инфекциями, передающимися с кровью.

В 1993–1995 гг. В.В. Покровский участвовал в разработке Федерального закона № 38-ФЗ «О предупреждении распространения в Российской Федерации заболевания, вызываемого вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)», в который удалось включить такие важные «гарантии государства», как «информирование населения о путях предупреждения заражения», «бесплатное лечение ВИЧ-инфицированных граждан», а также запрет на дискриминацию ВИЧ-инфицированных лиц. Этот документ стал юридической основой для организации всей дальнейшей борьбы с ВИЧ-инфекцией на территории РФ.

На основании результатов исследований в конце 80-х гг. в СССР В.В. Покровским была внедрена действующая до настоящего времени система эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией, основанная на активном обследовании населения на антитела к вирусу иммунодефицита, обязательной регистрации всех инфицированных граждан и проведении эпидемиологического расследования каждого случая заражения. Для обеспечения функционирования системы надзора В.В. Покровским была создана не имеющая мировых аналогов действующая компьютерная база данных о результатах обследования населения Российской Федерации на ВИЧ-инфекцию, включающая эпидемиологические данные 900 тыс. инфицированных граждан России. В последние годы эта система дополнена элементами надзора за циркулирующей субтипов ВИЧ, резистентностью вируса к лекарственным препаратам, а также генетическими маркерами, определяющими восприимчивость к заражению ВИЧ или обуславливающими эффективность лечения и вероятность возникновения побочных эффектов.

В конце 80-х — начале 90-х гг. Вадим Валентинович принимал участие в создании общероссийской сети центров по профилактике и борьбе с синдромом приобретенного иммунодефицита, возглавив Федеральный (в прошлом Всесоюзный) научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, обеспечивающий внедрение новейших научных достижений в области профилактики, диагностики и лечения ВИЧ-инфекции в практическое здравоохранение. Под руководством В.В. Покровского разработаны более 30 инструктивно-методических документов, необходимых для осуществления задач учреждений здравоохранения и Роспотребнадзора.

С 80-х гг. ученым разрабатываются методологические основы оказания медицинской помощи больным ВИЧ/СПИД. Впервые в России им описаны клинические проявления патологий, внедрена оригинальная национальная классификация ВИЧ-инфекции, основанная на результатах изучения клинического течения заболевания, апробированы многие отечественные и импортные препараты. На базе этих исследований были подготовлены первые методические рекомендации по лечению ВИЧ/СПИД, а в последние годы разработаны национальные клинические протоколы лечения болезней, стандарты и порядки оказания медицинской помощи ВИЧ-инфицированным.

В.В. Покровским написаны оригинальные книги, определяющие научные подходы к надзору за ВИЧ-инфекцией и оказанию медицинской помощи уже инфицированным: Эпидемиология и профилак-

тика ВИЧ-инфекции и СПИД, ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика, лечение, национальное руководство «ВИЧ-инфекция и СПИД» и другие, более 300 научных статей.

К сожалению, социально-экономические и политические изменения, произошедшие в России за последние десятилетия, создали такую «питательную среду» для распространения ВИЧ/СПИД, что В.В. Покровскому и его многочисленным ученикам потребуется еще много лет упорной работы, прежде чем проблему можно будет считать успешно завершённой.

*Редколлегия журнала «Вестник РАМН», друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют Вадима Валентиновича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, счастья, долгих лет жизни и новых творческих успехов на благо отечественной медицинской науки и практического здравоохранения.*

**Предусматривается следующая структура статьи:**

- 1) инициалы и фамилия (фамилии) автора (авторов);
- 2) полное название учреждения (учреждений); надстрочными арабскими цифрами отмечают соответствие учреждений, в которых работают авторы;
- 3) название статьи;
- 4) аннотация на русском и английском языке (150–250 слов, раскрывающих суть статьи; для оригинальных рукописей — цель, методы, результаты и заключение); перевод на английский язык, помимо текста аннотации, включает перевод ключевых слов, заглавия статьи, учреждений и фамилий авторов, транслитерированных в системе BSI (British Standard Institute; UK) и ISI (Institute for Scientific Information; USA) — можно воспользоваться сайтом <http://translit.ru/>;
- 5) ключевые слова;
- 6) текст статьи;
- 7) список литературы в порядке цитирования источников (не более 15–25 для оригинальных статей и не более 70–80 для теоретических и обзорных работ; номера ссылок в тексте выделяются квадратными скобками); в пристатейных списках литературы надо указывать фамилии и инициалы **ВСЕХ или как минимум первых шести** авторов статьи, т. к. сокращение авторского коллектива до 2–3 фамилий влечет за собой потерю цитируемости неназванных соавторов;
- 8) контактные данные каждого автора, включающие ФИО; ученую степень, звание и должность; полный почтовый адрес учреждения и электронную почту автора, рабочий телефон; мобильный телефон необходим только для связи с одним из авторов в случае необходимости внесения правок в статью (в журнале не указывается).

**Общие принципы**

Текст статьи, представляющей собой изложение результатов оригинального исследования, должен быть разделен на «**Обоснование**», «**Методы**», «**Результаты**», «**Обсуждение**», «**Заключение**». Это так называемая IMRAD-структура текста (от англ. Introduction, Methods, Results, Discussion), подразумевающая не произвольный формат публикации, а отражение процесса научного открытия. Кроме того, статьи зачастую нуждаются во введении подразделов внутри базовых разделов для облегчения восприятия информации читателями. Помимо перечисленных, обязательными являются разделы «**Конфликт интересов**», «**Выражение признательности**» (при наличии), «**Список литературы**».

Другие типы статей, такие как литературные обзоры, отчеты, мета-анализы, могут иметь менее структурированный текст и различные подзаголовки в теле статьи.

В обзорах литературы не предусмотрены разделы «**Обоснование**» и «**Заключение**», разделы внутри статьи остаются на усмотрение автора (но их присутствие строго обязательно).

Клинические наблюдения оформляют в соответствии с разделами: «**Введение**», «**Клинический пример**», «**Обсуждение**», «**Заключение**».

**Перевод**

Для тех авторов, которые хотят повысить видимость и цитирование статьи иностранными читателями, предлагается перевести в должном качестве свою статью на английский язык для последующего размещения на английской версии сайта журнала.

**Аннотация**

Поскольку аннотация (резюме, абстракт) является основной частью текста, по которой статья индексируется во многих электронных базах данных, авторы должны полноценно отразить в ней содержание работы, максимально избегая общих формулировок. Информация, представленная в аннотации, должна соответствовать таковой в тексте статьи.

Требованиями редакции к оформлению аннотаций предусмотрен объем не менее 150 и не более 250 слов (ключевых слов — не более 5).

Аннотации к оригинальным статьям, систематическим обзорам и мета-анализам необходимо структурировать в соответствии с разделами в тексте. Для оригинальных статей: «**Цель исследования**». «**Методы**». «**Результаты**». «**Заключение**». В заключении необходимо в сжатой форме подчеркнуть новые и наиболее важные аспекты, установленные по результатам проведенного ис-

следования (наблюдения). Выводы, представляемые в заключении, должны соответствовать заявленной цели.

По правилам оформления, в аннотации не должно быть аббревиатур, а также торговых наименований лекарственных средств, даже в случае, если в тексте статьи они встречаются.

**Обоснование**

Введение представляет собой краткое описание проблемы, на фоне которой возникла необходимость в проведении исследования. В нем освещают характер проблемы и ее значение, а также обозначают **цель исследования** либо гипотезу, которая будет проверена в процессе его проведения. Раздел должен быть обязательно подкреплён ссылками на литературные источники, подтверждающие актуальность проблемы, и не должен содержать данные или выводы настоящей работы.

**Методы**

Руководящий принцип данного раздела состоит в том, чтобы внести максимальную ясность относительно того, как и почему было проведено исследование. Раздел должен содержать только протокол выполнения исследования; вся информация, полученная в ходе соблюдения этого протокола, располагается в разделе «**Результаты**».

Раздел обычно структурируют на подразделы. Как правило, это план (дизайн) исследования; критерии соответствия; условия проведения; продолжительность исследования; описание медицинского вмешательства; исходы исследования; анализ в подгруппах; методы регистрации исходов; этическая экспертиза; статистический анализ. При необходимости и в зависимости от типа исследования могут быть введены дополнительные подразделы.

В разделе «**Методы**» необходимо дать краткое исчерпывающее описание применяемых в работе методов с указанием используемого оборудования и страны-производителя в случаях, если речь идет о лабораторных или инструментальных методах исследования. Это необходимо для того, чтобы дать возможность читателям при необходимости воспроизвести результаты исследования. Кроме того, следует подкреплять описание известных методов (в т. ч. статистических) ссылками.

Для всех лекарственных и химических веществ, применяемых в работе, необходимо указать дозировки, способы введения (применения), а также строго отслеживать использование в тексте исключительно международного непатентованного названия (МНН). Использование в текстах статей значка торговой марки ®, а также любых номеров и промокодов запрещено.

В случае проведения генетических и молекулярно-биологических исследований следует обязательно указывать название всех генов, аллелей, полиморфизмов, а также последовательности праймеров и способы экстракции ДНК (при выполнении ПЦР).

**Статистический анализ**

В подразделе необходимо максимально подробно описать методы статистического анализа, которые были использованы в работе, с тем, чтобы читатель, располагающий доступом к исходным данным, мог судить о целесообразности выбранных методов для изучения и оценки результатов исследования. Когда это возможно, представить результаты с соответствующими показателями измерения ошибки или неопределенности (например, доверительный интервал, ДИ), по возможности не полагаясь только на статистическую проверку гипотез (*p*), которая не в состоянии передать важную информацию о величине эффекта и точности производимой оценки. Описание методов лучше подкреплять ссылками на соответствующие источники, а также использовать только общепринятые статистические термины и аббревиатуры.

**Результаты****Участники исследования**

Следует четко описать и обосновать выбор наблюдений или объектов исследования, обозначить группы, на которые были подразделены участники, с указанием их числа, возраста, пола, этнической принадлежности и т. п. Если исследование проводили с участием определенной части населения (к примеру, только одного пола, возраста), необходимо предоставить обоснование этого выбора.

**Результаты исследования**

Результаты исследования в тексте, таблицах и рисунках должны быть представлены в логической последовательности с приведением основных либо наиболее важных данных в первую очередь.

Не следует дублировать все данные таблиц и рисунков в тексте, нужно описать только наиболее важные наблюдения. Любая дополнительная информация в виде подробного описания методов и второстепенных результатов, а также каких-либо технических деталей эксперимента может быть приведена в «Приложении», но не в основном тексте статьи.

Данные лучше приводить в абсолютном и процентном (в скобках) выражении с указанием уровня статистической значимости *p* (до третьего знака после запятой), если таковой имеется.

В качестве альтернативы чересчур объемным таблицам можно использовать графики (но не дублировать таблицы графиками).

Раздел должен содержать следующие подразделы: участники исследования; основные результаты исследования; дополнительные результаты исследования; нежелательные явления.

**Клинический пример (для клинических наблюдений)**

раздел «Клинический пример» описывает случай, который каким-либо образом может помочь в продвижении медицинской науки, иллюстрирует новый принцип или описывает необычный сценарий лечения.

*Презентация клинического случая должна содержать:*

- все необходимые детали, касающиеся описываемого наблюдения;
- соответствующие демографические данные пациента, представленные таким образом, чтобы его невозможно было идентифицировать;
- соответствующие истории болезни пациента;
- симптомы и признаки рассматриваемого состояния;
- описание проведенных исследований;
- описание любого лечения или вмешательства.

**Обсуждение**

В обсуждении результатов следует подчеркнуть новые и важные аспекты настоящего исследования. Не следует повторно приводить подробные данные, которые уже были освещены в предыдущих разделах статьи. Для экспериментальных (оригинальных) исследований полезно начать обсуждение, кратко суммируя основные выводы, т.е. постараться осветить возможные механизмы или причины получения таких результатов, сравнить и сопоставить полученные данные с данными другими исследователями, а также оценить значение результатов для будущих исследований и для клинической практики.

*При обсуждении клинического наблюдения необходимо:*

- включить в него любые замечания или дополнительную информацию, не вошедшие в описание самого случая;
- четко обозначить выводы, которые могут быть сделаны из истории болезни;
- дать объяснение важности и актуальности случая;
- включить в обсуждение информацию о том, как данное наблюдение поможет расширить знания об этиологии конкретного заболевания или механизме его лечения.

Раздел «Обсуждение» для оригинальной статьи должен содержать: резюме основного результата исследования; обсуждение основного результата исследования; ограничения исследования.

**Заключение**

Представляет собой изложение в краткой форме результатов и их обсуждение, а также связь этих результатов с заявленной целью исследования. В заключении необходимо избегать неправомерных выводов, не подтвержденных должным образом результатами исследования. К примеру, следует учитывать различие между статистической и клинической значимостью результатов и избегать заявлений об экономической выгоде (затратах), если только статья не содержит в себе анализ подобных данных. Если это оправдано, можно озвучить как-либо новые гипотезы, но при этом четко их обозначить.

**Конфликт интересов**

Авторам необходимо указать источник (и) финансирования исследования, используя шаблон: «Исследование выполнено при финансовой

поддержке (финансовом обеспечении)...». Отсутствие дополнительного финансирования также следует подчеркнуть. В этом случае при заполнении этого раздела будет использована формулировка «Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования/конфликта интересов, о которых необходимо сообщить».

**Выражение признательности**

Авторам предоставляется возможность выразить слова благодарности тем, чей вклад в исследование недостаточен для признания их соавторами, но вместе с тем, считается авторами значимым (консультации, техническая помощь, переводы и пр.).

**Список литературы**

Авторы должны по возможности предоставить прямые ссылки на оригинальные источники ввиду того, что обзорные статьи не всегда точно отражают исходные данные оригинальных статей, на которые ссылаются. При этом следует также учитывать, что слишком большое число ссылок на оригинальные исследования занимают большое пространство, в связи с чем рекомендуемое число источников в списке для оригинальных статей составляет 15–25 (для литературных обзоров — 70–80).

Обратите внимание, что ссылки более чем десятилетней давности свидетельствуют не в пользу актуальности освещаемой темы. Редакция имеет право (за редким исключением) удалять такие ссылки либо просить авторов произвести замену.

Авторам следует максимально избегать самоцитирования, за исключением случаев, когда оно представляет собой крайне важную информацию. Самоцитирование следует ограничить тремя ссылками (максимально).

Во избежание ошибок при оформлении списка литературы и, как следствие, ошибок при дальнейшем цитировании лучше проверять ссылки при помощи электронных библиографических источников, таких как, например, PubMed (либо распечатать копии первоисточников). Авторы несут ответственность за достоверность предоставляемых источников, в т.ч. за то, что представленные ссылки не относятся к статьям, которым было отказано в публикации (за исключением наличия ссылки на источник с опровержением). В данной ситуации авторитетным источником информации также можно считать PubMed.

Ссылки в тексте должны располагаться строго последовательно, в порядке возрастания (включая те, которые могут встречаться в таблицах и рисунках) и обозначаться арабскими цифрами в квадратных скобках.

Названия журналов должны быть сокращены в соответствии со стандартами, принятыми в Medline ([www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals)).

**Аббревиатуры и символы**

Следует использовать только стандартные общепринятые сокращения, т.к. применение любых нетипичных сокращений может ввести в заблуждение читателей. Аббревиатура вводится в текст при условии ее упоминания не менее 5 раз. При введении аббревиатуры ее следует написать в круглых скобках после расшифровки, далее использовать только аббревиатуру.

**Статьи направляются по адресу:**

Островская Анастасия Сергеевна – [vestnikramn@nczd.ru](mailto:vestnikramn@nczd.ru)

**Примеры оформления списка литературы**

1. Excerpts from the United States Renal Data System 2007 annual data report. *Am. J. Kidney Dis.* 2008; 51 (1 Suppl. 1): 1–320.
2. Хаитов Р. М. Физиология иммунной системы. М.: ВИНТИ РАН. 2005. 375 с.
3. Федосеев М. В., Намазова-Баранова Л. С. *Педиатрическая фармакология.* 2010; 1: 114–121.
4. Yank V., Rennie D. *Ann. Intern. Med.* 1999; 130 (8): 661–670.

**Образец оформления контактной информации:**

Иванова Елена Ивановна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела сердечно-сосудистой хирургии Российского кардиологического научно-производственного комплекса.

Адрес: 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а;  
тел.: +7 (495) 414-69-89, e-mail: [doelina@yandex.ru](mailto:doelina@yandex.ru)