



ВЕСТНИК

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОЙ
ГОСУДАРСТВЕННОЙ
МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ
им. И.И.МЕЧНИКОВА

HERALD

OF THE MECHNIKOV
SAINT-PETERSBURG STATE
MEDICAL ACADEMY

3

2008

МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
И СОЦИАЛЬНОГО
РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

№ 3 (28) ■ 2008

выходит 4 раза в год

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ВЕСТНИК

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОЙ
ГОСУДАРСТВЕННОЙ
МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ
им. И.И. МЕЧНИКОВА

Журнал входит в перечень изданий, рекомендуемых ВАК для публикации научных работ, отражающих содержание докторских диссертаций.

При использовании материалов ссылка обязательна.

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

195067, Санкт-Петербург,
Пискаревский пр., д. 47,
Санкт-Петербургская
государственная
медицинская академия
им. И.И. Мечникова,
павильон 35,
научная часть.
Телефон: 543-93-18.
Факс: 140-15-24, 543-93-18.
e-mail: mechnik@gmail.com
mechnik@westcall.net

ЛР № 020496.

Подписано в печать
25.09.2008 г.

Формат 60 x 84 1/4.

Печать офсетная.

Усл. печ. л. 25,5.

Уч.-изд. л. 24.

Тираж 1000 экз.

Заказ №1837.

Компьютерная верстка –
ООО «Артиком плюс».

Отпечатано с диапозитивов в ООО «Типография
“Береста”»,

Санкт-Петербург,
ул. Коли Томчака, д. 28

ISSN 0371-9367.

Вестн. СПбГМА

им. И. И. Мечникова.

2008. № 3 (28). 204 с.

Подписной индекс: 15413.

**Материалы 6-ой Международной Германо-Российской
конференции Форума Кох – Мечников:**

**«От Ильи Мечникова и Пауля Эрлиха к современным
достижениям медицинской науки и практики»**

К 100-летию присуждения Нобелевской премии

Илье Мечникову и Паулю Эрлиху

Санкт-Петербург, 16–17 октября 2008 года

Главный редактор – А.В. ШАБРОВ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

В.Г. АРТАМОНОВА, А.М. БОЛЬШАКОВ, А.А. БОРИСОВ,
В.А. ДОЦЕНКО, Л.П. ЗУЕВА, С.И. ИВАНОВ, А.В. ИСТОМИН,
В.Р. КУЧМА, Б.В. ЛИМИН, В.С. ЛУЧКЕВИЧ, В.Г. МАЙМУЛОВ
(зам. главного редактора), Г.Г. ОНИЩЕНКО, Ю.П. ПИВО-
ВАНОВ, С.Н. ПУЗИН, Ю.А. РАХМАНИН, П.Г. РОМАШОВ,
П.И. СИДОРОВ, Г.А. СОФРОНОВ, В.И. СТАРОДУБОВ,
Е.И. ТКАЧЕНКО, В.А. ТУТЕЛЬЯН, В.П. ЧАЩИН, Т.С. ЧЕРНЯ-
КИНА (ответственный секретарь)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Н.М. АНИЧКОВ (Санкт-Петербург), А.И. ВЕРЕЩАГИН (Мос-
ква), Л.И. ГЛУШКОВА (Сыктывкар), С.А. ГОРБАНЕВ (Санкт-
Петербург), В.А. ДАДАЛИ (Санкт-Петербург), Г.И. ДЬЯЧУК
(Санкт-Петербург), Н.В. ЗАЙЦЕВА (Пермь), А.Л. ЗЕЛЬДИН
(Санкт-Петербург), А.Л. КОВАЛЕНКО (Санкт-Петербург),
Б.А. КУРЛЯНДСКИЙ (Москва), С.А. ЛИННИК (Санкт-Пете-
бург), А.В. МЕЛЬЦЕР (Санкт-Петербург), С.В. НАГОРНЫЙ
(Санкт-Петербург), В.И. НИКОЛАЕВ (Санкт-Петербург),
В.М. ПЕТРЕНКО (Санкт-Петербург), Л.Г. ПОДУНОВА (Моск-
ва), И.В. ПОЛЯКОВ (Санкт-Петербург), И.А. РАКИТИН
(Санкт-Петербург), В.Г. РАДЧЕНКО (Санкт-Петербург),
А.В. СКАЛЬНЫЙ (Москва), Э.Г. ТОПУЗОВ (Санкт-Петербург),
С.А. ХОТИМЧЕНКО (Москва), А.Г. ШИМАН (Санкт-Пете-
бург), А.П. ЩЕРБО (Санкт-Петербург), И.Ш. ЯКУБОВА
(Санкт-Петербург)

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ ■ 2008

THE MINISTRY OF
PUBLIC HEALTH AND
SOCIAL
DEVELOPMENT OF
THE RUSSIAN
FEDERATION

№ 3 (28) ■ 2008

4 issues a year

HERALD

OF THE MECHNIKOV
SAINT-PETERSBURG STATE
MEDICAL ACADEMY

SCIENTIFIC - PRACTICAL JOURNAL

**Proceedings of 6th International German-Russian
conference of the Forum Koch - Mechnikov:
«From Iliya Mechnikov and Paul Ehrlich to the modern
achievements of medical science and practice»**

**To the 100th anniversary of 1908 Nobel Prize award to
Iliya Mechnikov and Paul Ehrlich
Saint-Petersburg, October, 16-17, 2008**

Chief Editor – A.V. Shabrov

EDITORIAL BOARD

V.G. ARTAMONOVA, A.M. BOLSHAKOV, A.A. BORISOV, V.A. DOTSSENKO, L.P. ZUEVA, S.I. IVANOV, A.V. ISTOMIN, V.R. KUCHMA, B.V. LIMIN, V.S. LUCHKEVICH, V.G. MAIMULOV (deputy chief editor), G.G. ONISHCHENKO, Yu.P. PIVOVAROV, S.N. PUZIN, Yu.A. RAKHMANIN, P.G. ROMASHOV, P.I. SIDOROV, G.A. SOFRONOV, V.I. STARODUBOV, E.I. TKACHENKO, V.A. TUTELIYAN, V.P. CHASHCHIN, T.S. CHERNYAKINA (editor-in-chief)

EDITORIAL COUNCIL

N.M. ANICHKOV (St.-Petersburg), A.G. VERESHCHAGIN (Moscow), L.I. GLUSHKOVA (Syktyvkar), S.A. GORBANEV (St.-Petersburg), V.A. DADALI (St.-Petersburg), G.I. DIYACHUK (St.-Petersburg), N.V. ZAITSEVA (Perm), A.L. ZELDIN (St.-Petersburg), A.L. KOVALENKO (St.-Petersburg), B.A. KURLYANDSKY (Moscow), S.A. LINNIK (St.-Petersburg), A.V. MELTSEY (St.-Petersburg), S.V. NAGORNIY (St.-Petersburg), V.I. NIKOLAEV (St.-Petersburg), V.M. PETRENKO (St.-Petersburg), L.G. PODUNOVA (Moscow), I.V. POLYAKOV (St.-Petersburg), I.A. RAKITIN (St.-Petersburg), V.G. RADCHENKO (St.-Petersburg), A.V. SKALNIY (Moscow), E.G. TOPUZOV (St.-Petersburg), S.A. KHOTIMCHENKO (Moscow), A.G. SHIMAN (St.-Petersburg), A.P. SHCHERBO (St.-Petersburg), I.Sh. YAKUBOVA (St.-Petersburg)

SAINT-PETERSBURG ■ 2008

СОДЕРЖАНИЕ

ЖИЗНЬ И ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ЛАУРЕАТОВ НОБЕЛЕВСКОЙ ПРЕМИИ И.И. МЕЧНИКОВА И П. ЭРЛИХА

Шабров А.В. И.И.Мечников – ученый, философ, романтик	7
Хан Хельмут Пауль Эрлих – выдающийся учёный	14
Йорнвал Ханс. Нобелевская премия в области физиологии и медицины	19

ИНФЕКЦИИ И ИММУНИТЕТ. ДОСТИЖЕНИЯ ФАРМАКОТЕРАПИИ

Палмблад Ян. Функции гранулоцитов – от открытия Мечникова до наших дней.	22
Палмблад Ян. Нейтропения и синдром дисфункции нейтрофилов	23
Мукомолов С.Л., Калинина О.В., Ликий И.В., Сталевская М.В. Молекулярно-биологическая характеристика возбудителей вирусных гепатитов В и С.....	27
Иванов А.К., Нечаев В.В., Ле Тоан, Жужгова И.В., Пантелеев А.М., Турсунова Н.А. Состояние иммунной системы у больных сочетанными социально-значимыми инфекциями	31
Циркунов В.М., Матиевская Н.В., Еремин В.Ф., Прокончик Н.И. ВИЧ-ассоциированная HCV-инфекция.....	34
Малеев В.В., Сологуб Т.В., Наровлянский А.Н., Токин И.И., Семеняко Н.А., Романцов М.Г. Хронический гепатит С: возможности и перспективы противовирусной терапии	37
Кветная А.С., Л.И.Железова Этиопатогенетические механизмы формирования дисбиоза просвета толстой кишки при острых кишечных инфекциях у детей.....	41
Григорьева Т.И., Аксенова С.В., Захаркин А.Г., Пузанов С.Ю., Тюрин Е.П., Келейников А.Б. Модуляция функциональной активности форменных элементов крови при эндотоксикозе	44
Власов А.П., Меркушкина И.В., Логинова О.В., Тюрин Е.П., Григорьева Т.И., Есмейкин А.П., Майдокина О.В. Цитопротекторный эффект препаратов метаболического типа действия	48
Григорьева Т.И. Роль липидмодифицирующегося компонента биомембран в противопанкреатическом эффекте препаратов метаболического действия	52
Макаров А.И., Добродеева Л.К., Гудков А.Б., Штабров В.А. Иммунологическая реактивность у больных с абдоминальной хирургической инфекцией	57
Лешихина Ю.А., Прилуцкая Н.В., Цкаева Т.М., Жидких С.Ю., Джафаров Э.Т., Балдин В.Л., Овсяницкий Ф.О. Профилактика и лечение гнойно-септических осложнений у хирургических больных	61
Бурданова Т.М., Чеснокова М.В., Аитов К.А. Клинико-патологические аспекты рожистого воспаления. Эффективность применения Циклоферона	65
Романцов М.Г., Ершов Ф.И., Грячева Л.Г., Сологуб Т.В., Коваленко А.Л., Петров А.Ю. Фармакотерапевтическая эффективность Циклоферона при патологических состояниях у детей	69
Куликова О.Д., Короткий В.Г., Романцов М.Г. Патогенетически обоснованное применение реамберина в терапии атопического дерматита у детей	77

CONTENS

LIFE AND ACTIVITY OF THE NOBEL PRIZE WINNERS I.I.MECHNIKOV AND I.P.EHRLICH

Shabrov A.V. I.I.Mechnikov - the scientist, philosopher, romanticist	7
Hahn Helmut Paul Ehrlich: Der rationale Wissenschaftler	14
Jörnval Hans The Nobel Prize in Physiology or Medicine	19

INFECTIONS AND IMMUNITY. PHARMACOTHERAPY ACHIEVEMENTS

Palmblad Jan Granulocyte function - from the discovery by Mechnikov to today	22
Palmblad Jan Neutropenia and neutrophil dysfunction syndromes	23
Mukomolov S.L., Kalinina O.V., Liky I.V., Stalevskaya M.V. Molecular-biological characteristics of virus hepatitis B and C causative agents	27
Ivanov A.K., Nechaev V.V., Le Toan, Zhuzhgova I.V., Panteleev A.M., Tursunova N.A. Immune system state in patients with combined socially-significant infections	31
Tsirkunov V. M, Matievskaya N.V., Eremin V. F, Prokopchik N.I. HIV-associated HCV-infection	34
Sologub T.V., Narovlyansky A.N., Tokin I.I., Folitar I.V., Semenyako N.A., Romantsov M.G. Chronic hepatitis C: possibilities and prospects of antiviral therapy	37
Kvetnaya A.S., Zhelezova L.I. Etiopatogenetic mechanisms of colon lumen disbiosis formation in children acute intestinal infection	41
Grigorieva T.I., Akseanova S.V., Zakharkin A.G., Puzanov S.Yu., Tyurina E.P., Keleynikov A.V. Blood formed elements functional activity modulation in endotoxiosis	44
Vlasov A.P., Merkushkina I.V., Loginov O. V, Tyurina E.P., Grigorieva T.I., Esmeykin A.P., Maydokina O.V. Cytoprotective effect of medicines with metabolic type of activity	48
Grigorieva T.I. The role of lipidmodifying mebrane component in antipancreatic effect of medicines with metabolic activity	52
Makarov A.I., Dobrodeeva L.K., Gudkov A.B., Shtaborov V. A. Immune responsiveness in patients with abdominal surgical infection	57
Leshikhina Yu.A., Prilutskaya N.V., Tskaeva T.M., Zhidkikh S.Yu., Dzhafarov E.T., Baldin V. L, Ovsyanitsky F.O. Prevention and treatment of purulent-septic complications in surgical patients	61
Burdanova T.M., Chesnokova M. V, Aitov K.A. Clinical-and-pathologic aspects of erysipelas. Efficacy of Cycloferon	65
Romantsov M. G, Ershov F.I., Gryacheva L.G., Sologub T.V., Kovalenko A.L., Petrov A.Yu. Cycloferon pharmacotherapeutic efficiency in children pathological states	69
Kulikova O. D., Korotky V.G., Romantsov M.G. Patogenetically proved reamberin use in therapy of children atopic dermatitis	77

Белобородова Е.В., Белобородова Э.И., Рязанцева Н.В., Черногорюк Г.Э., Рачковский М.И., Пурлик И.Л., Акбашева О.Е., Гончарова И.А., Суходолин Д.А. Функциональные свойства клеточного и гуморального звеньев иммунной системы при хронических заболеваниях печени 79

Баранова И.П., Керимова Ж.Н., Жеворченкова О.А., Сосновский А.Е. Особенности течения цитомегаловирусной инфекции у детей первого года жизни 84

Новикова В.П., Крулевский В.А., Петровский А.Н. Эпштейн-Барр вирусная инфекция при нехеликобактерном хроническом гастрите у лиц разного возраста 87

Юшук Н.Д., Ахмедова М.Д., Магомедова С.А. Т- и В-клеточный иммунитет у больных бруцеллезом 90

Зубарева Е.В., Шульдяков А.А., Трубецков А.Д., Ляпина Е.П., Сатарова С.А., Анащенко А.В. Метаболическая терапия при хроническом бруцеллезе как средство коррекции эндотоксикоза и функциональных нарушений миокарда 93

Позднякова М.Г., Эсауленко Е.В., Го А.А., Атарская О.В., Амосова И.В., Попкова М.А., Ерофеева М.К. Возможность применения препарата «Полудан» в терапии гриппа и острых респираторных вирусных инфекций 95

Васильев О.Д., Светлов Д.А., Черепанов С.В., Лалу А. Новый спороцидный антисептик – «Тефлекс А» 99

Калиногорская О.С., Кветная А.С. Особенности течения коклюша у детей на современном этапе: состояние поствакцинального иммунитета и антиинфекционной резистентности слизистой ротоглотки 102

Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П., Романцов М.Г. Цитофлавин как эффективный препарат депотенцирования летального воздействия токсинов Y.Pestis 105

Гордеев А.В., Савина О.Г., Шаркова В.А. Клинико-иммунологический мониторинг терапии инфекционного мононуклеоза у детей 108

МИКРОБИОТА ЗДОРОВОГО И БОЛЬНОГО ЧЕЛОВЕКА. ИДЕИ МЕЧНИКОВА И ЭРЛИХА В КЛИНИКЕ И ТЕРАПИИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Мартусевич А.К., Зимин Ю.В. Роль физико-химических процессов в системе «микроорганизм – человек» 112

Ткаченко Е.И., Барышникова Н.В., Успенский Ю.П., Авалуева Е.Б. Хеликобактериоз и дисбиоз желудочно-кишечного тракта: биологические и клинические проблемы сосуществования 115

Бойцов А.Г., Нилова Л.Ю., Оришак Е.А. Дисбиотические нарушения микрофлоры толстого кишечника: проблемы диагностики и коррекции 120

Косьякова К.Г., Бойцов А.Г. Совершенствование методов бактериологического контроля за инфекциями в области хирургического вмешательства 123

Шабалов А.М., Новикова В.П., Кузьмина Д.А., Суворова М.А., Бойцов А.Г., Оришак Е.А. Микробиоценоз полости рта и особенности стоматологических проявлений рефлюкс-эзофагита у детей 127

Бондарев В.А., Христенко Т.А., Ясная Е.С., Даниленко Л.П., Малихина М.А. Сравнительная характеристика микробиоценоза зубного налета у детей 131

Чугунова Ю.А., Гречанинова Т.А., Ластовка О.Н., Бойцов А.Г. Использование фотоплазменного метода очистки воздуха в медицинских учреждениях 133

Левитан Б.Н., Умерова А.Р., Дедов А.В., Левитан Г.Б. Антитела к микробным липополисахаридам кишечной экосистемы при хронических гепатитах и циррозах печени 135

Beloborodova E.V., Beloborodova E.I., Ryazantseva N.V., Chernogoryuk G. E, Rachkovsky M.I., Purlik I.L., Akbasheva O. E, Goncharova I.A., Sukhodolin D.A. Functional properties of cellular and humoral parts of immune system in chronic liver diseases 79

Baranova I.P., Kerimova Zh.N., Zhevorchenkova O. A, Sosnovsky A.E. Special characteristics of cytomegalovirus infection in children of the first year of life 84

Novikova V. P., Krulevsky V.A., Petrovsky A.N. Epstein-Barr virus infection in non-helicobacter chronic gastritis in persons of different age 87

Yushchuk N.D., Akhmedova M. D, Magomedova S.A. T- and B-cellular immunity in patients with brucellosis 90

Zubareva E.V., Shuldyakov A.A., Trubetskov A.D., Lyapina E.P., Satarova S.A., Anashchenko A.V. Metabolic therapy in chronic brucellosis as a correction agent of endotoxicosis and functional myocardial disorders 93

Pozdnyakov M. G., Esaulenko E.V., Go A.A., Atarskaya O.V., Amosova I.V., Popkova M. A, Yerofeeva M. K. Possibility of «Poludanum» use in flu and acute respiratory viral infections therapy 95

Vasiliev O. D., Svetlov D.A., Cherepanov S.V., Lali A. New sporocidal antiseptic - «Teflex A» 99

Kalinogorskaya O.S., Kvetnaya A.S. Special features of whooping cough in children at the present stage: a state of postvaccinal immunity and an anti-infectious resistance of oropharynx mucosa 102

Afanasiyeva G. A, Chesnokova N.P., Romantsov M.G. Cytoflavin as an effective medicine for depotentiation of Y.Pestis toxin lethal influence 105

Gordeets A.V., Savina O. G., Sharkova V. A. Clinico-immunological monitoring of infectious mononucleosis in children 108

MICROBIOTA OF HEALTHY AND SICK MAN. IDEAS OF MECHNIKOV AND EHRLICH IN CLINIC AND THERAPY OF VARIOUS DISEASES

Martusevich A.K., Zimin Yu.V. Physical and chemical processes role in the system «microorganism - man» 112

Tkachenko E.I., Baryshnikova N.V., Uspensky Yu.P., Avalueva E.B. Gastrointestinal tract helicobacteriosis and disbiosis: biological and clinical problems of coexistence 115

Boytssov A.G., Nilova L.Yu., Orishak E.A. Large intestine microflora disbiotic disturbances: diagnostics and correction problems 120

Kosyakova K.G., Boytssov A.G. Perfection of bacteriological methods of control over infections in surgical intervention 123

Shabalov A.M., Novikova V. P, Kuzmina D.A., Suvorova M. A., Boytssov A.G., Orishak E.A. Microbiocenosis of oral cavity and features of stomatologic manifestations of reflux-esophagitis in children 127

Bondarev V.A., Khristenko T.A., Yasnaya E.S., Danilenko L.P., Malykhina M. A. Comparative characteristics of microbiocenosis of dental deposit in children. 131

Chugunova Y.A., Grechaninova T.A., Lastovka O. N., Boytssov A.G. Use of photoplasma method for air purification in medical institutions 133

Levitan B.N., Umerova A.R., Dedov A.V., Levitan G. B. Antibodies to microbic lipopolisaccharides of intestinal ecosystem in chronic hepatitis and liver cirrhosis 135

УЧЕНИЕ И.И.МЕЧНИКОВА О СТАРЕНИИ И ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ ГЕРОНТОЛОГИИ

- Хавинсон В.Х., Малинин В.В. Влияние коротких пептидов на иммунопатологические процессы при старении 139
- Шемеровский К.А. Кишечный аспект здорового старения 143
- Корольюк А.М. От «простокваши Мечникова» к современным пробиотическим продуктам функционального питания 146
- Самсонова М.В., Мельникова И.Ю. Перспективы использования лактосодержащих пробиотиков в терапии НР-ассоциированного гастродуоденита у детей и подростков 151
- Нилова Л.Ю., Оришак Е.А. К вопросу о применении пробиотиков для коррекции дисбактериоза толстого кишечника 154
- Еремина Е.Ю., Строчкова О.А. Изменения структуры слизистой оболочки тонкой кишки у больных пожилого возраста, страдающих хроническим панкреатитом... 157

ВЫСОКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ

- Наровлянский А.Н., Кремень Н.В., Семеняко Н.А., Романцов М.Г., Мезенцева М.В., Фолитар И.В. Иммунопатогенетические аспекты назначения иммунотропных препаратов при HCV-инфекции 160
- Ерофеева М.К., Никоноров И.Ю., Максакова В.Л., Охалкина Е.А., Вакин В.С., Войтсеховская Е.М., Васильева А.А., Головачева Е.Г., Позднякова М.Г., Кузнецова Е.В. Профилактическая эффективность, реактивность, безопасность и иммуногенность новой гриппозной вакцины ГРИФОР® при однократной иммунизации взрослых от 18 до 60 лет 164
- Тархан - Моурави И.Д., Ломая М.М. Патогенетические механизмы действия аэрозольтерапии циклофероном при хронических ринитах 168
- Афиногенова А.Г., Афиногенов Г.Е., Пострелов А.Н., Краснова М.В. Предупреждение формирования микробных биопленок на изделиях медицинского назначения под влиянием нанокластеров серебра 171
- Тец В.В., Бобров А.П., Орехова Л.Ю., Левкович Д.В., Щербак Д.С., Тец Г.В., Доморад А.М., Яковлева О.М. Эффективность действия антисептиков и ДНКазы на биопленки бактерий нормальной микрофлоры, образующиеся при ортодонтическом лечении несъемной аппаратурой 175
- Сухонос Ю.А., Покровский В.Н., Довгарь А.С. Концепция трансцервикальной лазерно-эндоскопической стерилизации 179
- Аглетдинов Э.Ф., Камиллов Ф.Х., Алехин Е.К., Булыгин К.В., Макашева Л.О. Гонадотоксическая активность полихлорированных бифенилов в условиях экспериментального отравления ксенобиотиками 183

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

- Агисhev В.Г., Иванова Н.Э., Фаддеев Д.В., Сливинский Б.М., Глушко О.Я., Чугунова С.В. Сочетание ВИЧ-инфекции и психических расстройств у пациентов Городской психиатрической больницы № 3 имени И.И.Скворцова-Степанова 188
- Комиссаров С.Н. Гистохимическая характеристика вирусной активности у больных HCV-инфекцией 190
- Красноплх Л.Г., Крутовских С.А. Предстерилизационная очистка изделий медицинского назначения с применением высокотехнологических процессов 191

I.I. MECHNIKOV'S DOCTRINE ON AGEING AND THE PROBLEMS OF MODERN GERONTOLOGY

- Khavinson V.Kh., Malinin V.V. Effect of small peptides on immunopathologic processes In ageing 139
- Shemerovskiy K.A. Intestinal aspect of healthy ageing 143
- Korolyuk A.M. From «Mechnikov curdled milk» to modern probiotic products of functional nutrition 146
- Samsonova M. V., Melnikova I.Yu. Prospect of lacto-containing probiotics in the therapy of HP-associated gastroduodenitis in children and teenagers 151
- Nilova L.Yu., Orishak E.A. Probiotics use for the correction of large intestine disbacteriosis 154
- Eremina E.Yu., Strokova O. A. Small intestine mucosa changes in elderly patients with chronic pancreatitis 157

HIGH TECHNOLOGIES IN MEDICINE

- Narovlyansky A.N., Kremen N.V., Semenyako N.A., Romantsov M. G, Mezentseva M. V., Folitar I.V. Immunopathogenetic aspects of immunotropic medicine prescription in HCV-infection 160
- Yerofeeva M. K, Nikonorov I.Yu., Maksakova V. L., Okhalkina E.A., Vakin V. S., Voytsekhovskaya E.M., Vasilieva A.A., Golovacheva E.G., Pozdnyakova M. G., Kuznetsova E.V. Prophylactic efficiency, reactivity, safety and immunogenicity of a new influenza vaccine GRIFOP® in single immunization of adults from 18 to 60 years of age 164
- Tarkhan-Mouravi I.D., Lomaya M.M. Patogenic mechanisms of cycloferon aerosoltherapy action in chronic rhinites 168
- Afinogenova A.G., Afinogenov G. E., Postrellov A.N., Krasnova M.V. The prevention of microbic biofilms formation on the products of medical appointment under the influence of silver nanoclusters 171
- Tets V.V., Bobrov A.P., Orekhova L.Yu., Levkovich D.V., Shcherbakova D.S., Tets G. V, Domorad A.M., Yakovleva O.M. Antiseptics and DNA-ase effects on normal microflora bacteria biofilms, formed at orthodontic treatment by fixed equipment 175
- Sukhonos Yu.A., Pokrovsky V.N., Dovgar A.S. Concept of transcervical laser-endoscopic sterilisation 179
- Agletdinov E.F., Kamilov F.Kh., Alekhin E.K., Bulygin K.V., Makasheva L.O. Polychloride biphenyl gonadotoxic activity in experimental xenobiotic poisoning 183

SHORT COMMUNICATIONS

- Agishev V. G, Ivanova N.E., Faddeev D.V., Slivinskii B.M., Glushko O. Ya., Chugunova S.V. Combination of HIV-infection and psychic disorders in patients of the city psychiatric hospital № 3 named after I.I.Skvortsov-Stepanov 188
- Komissarov S.N. Histochemical characteristics of virus activity in patients with HCV-infection 190
- Krasnoplakh L.G., Krutovskikh S.A. Presterilizing clearing of products of medical appointment with the use of highly technological processes 191

<i>Покровский В.Н., Лецинская А.Е., Крочачев В.Ю.</i> Опыт сотрудничества ученых России и Германии в области здравоохранения в 2006–2008 годах.....	192	<i>Pokrovsky V.N., Leshchinskaya A.E., Kropachev V.Yu.</i> Experience of cooperation of Russian and German scientists in the field of public health services in 2006-2008
<i>Шнайбель О.И., Кричков А.Г., Покровский В.Н.</i> «Литофитоарома комплекс» для внутреннего и внешнего омоложения	194	<i>Shnaybel O. I., Krichkov A.G., Pokrovsky V.N.</i> «Lithophytoaroma complex» for internal and external rejuvenation
<i>Шпак М.Ю., Лецинская А.Е., Юзбашьян С.Г.</i> Много-частотный синтезатор «МЧС» как многофункциональное средство борьбы с паразитами	195	<i>Shpak M. Yu., Leshchinskaya A.E., Yuzbashyan S.G.</i> Multifrequent synthesizer «MCHS» as a multipurpose means for the struggle with parasites
Вниманию авторов	198	

ЖИЗНЬ И ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ЛАУРЕАТОВ НОБЕЛЕВСКОЙ ПРЕМИИ И.И. МЕЧНИКОВА И П. ЭРЛИХА LIFE AND ACTIVITY OF THE NOBEL PRIZE WINNERS I.I.MECHNIKOV AND I.P.EHRLICH

© А.В. Шабров, 2008
© A. V Shabrov, 2008

И.И. МЕЧНИКОВ – УЧЕНЫЙ, ФИЛОСОФ, РОМАНТИК

А.В. Шабров

*Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия*

Шабров А.В. И.И. Мечников – ученый, философ, романтик // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 7–12.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации», 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47 Тел. (812) 543-96-09, факс: (812) 140-15-24 Эл. почта: mechnik@westcall.net; www. mechnik.spb.ru

Shabrov A. V. I. I. Mechnikov – The scientist, philosopher, romanticist // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 7–12.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall. net; www. mechnik.spb.ru

Илья Ильич Мечников являлся блестящим представителем когорты будущих лауреатов Нобелевской премии, отличаясь даже на их фоне широчайшей эрудицией и необыкновенной научной информированностью. Ему довелось работать в лучших лабораториях Германии и Франции – мировых лидеров того времени в области естественных наук. Коммуникабельность, умение быть интересным собеседником и владение в совершенстве французским и немецким языками позволяло ему легко налаживать личные контакты с ведущими учеными этих двух стран, когда государства перманентно находились в состоянии взаимной вражды, нередко переходившей в попытки игнорировать даже научные достижения соседей. Мечникову невольно приходилось выполнять функцию связующего звена между научными школами франко- и германоязычного миров. Благодаря переводам научных статей, осуществленным Мечниковым с французского языка на немецкий и наоборот, научная общественность Европы получала возможность знакомиться с результатами работы

своих коллег. Илья Ильич был одним из первых европейцев в том смысле, который в это слово вкладывают сегодня. Игнорируя политические бури, сотрясавшие континент, он успешно объединял идеи ученых России, Германии и Франции. К счастью, после великого открытия Роберта Коха дух добровольного взаимного отчуждения стал постепенно уходить в прошлое.

Создание теории фагоцитоза было главным, но не единственным крупным достижением Мечникова. Например, его идея, что антитела вырабатываются не только к микробам, но и к любым чужеродным клеткам, спустя полвека предопределила появление многочисленных работ, посвященных изучению патогенеза аутоиммунных заболеваний.

Мечников является родоначальником концепции пробиотиков. Он впервые сумел увязать защиту человека от кишечных инфекций с молочнокислыми бактериями. Именно в его лаборатории на основе штамма лактобацилл болгарской палочки был создан ставший впоследствии всемирно известным лактобациллин. Фейерверк открытий Мечникова в

области микробиоциноза высших организмов и правильное определение им огромного лечебного потенциала микробных компонентов привычной пищи не убедили научную общественность его времени. Сформулированное Ильей Ильичом положение о полезности микробного антагонизма для здоровья человека получило подтверждение уже во второй половине XX века.

Развивая идею о роли молочнокислой палочки для поддержания здоровья человека, Мечников сформулировал теорию старения организма и указал способы удлинения продолжительности жизни. В этой области авторитет Мечникова признавал даже не признававший никаких авторитетов Лев Толстой, заявивший: «Простоквашу Вашу пью и обещаю прожить до ста лет». Задачи продления жизни были сформулированы Мечниковым в его Уайлдовской лекции (Wilde Lecture) на тему *Sur la flore du corps humain* (О флоре человеческого тела), прочитанной им в 1901 году в Манчестере на заседании литературно-философского общества; тем самым он заложил основы геронтологии.

Необходимо также признать в Мечникове талантливого и самобытного философа. Об этом свидетельствует разработанная им в конце жизни своеобразная система мировоззрения, изложенная в биолого-философских трудах «Этюды о природе человека», «Этюды оптимизма» и в сборнике «Сорок лет искания рационального мировоззрения» (1913).

Международное признание Мечникова как одного из лидеров естествознания нашло свое отражение в том, что к концу жизни Илья Ильич стал почетным доктором Кембриджского университета, иностранным членом Лондонского королевского общества, членом Парижской медицинской академии, почетным членом Петербургской, Парижской, Венской, Бельгийской и других академий наук, кавалером ордена Почетного легиона, а также орденов России, Италии, Японии, Сербии и других стран.

Род Мечниковых известен с XVIII века. В энциклопедии Брокгауза и Эфрона читаем: «Мечниковы – дворянский род, происходящий от молдавского боярина и спафария (мечника) Юрия Степановича, выехавшего в Россию в 1711 году с князем Кантемиром. Его сын принял фамилию Мечников». Среди предков по отцовской линии в роду Ильи Ильича были военные и моряки, директор горного производства и сенатор. Дед по материнской линии – варшавский еврей, принявший лютеранство, по роду занятий литератор. Накануне варшавского восстания 1830 года, убегая от катаклизмов, он забрал свои капиталы и переселился в Петербург. Его сын стал гвардейским офицером, а дочь Эмилия была принята в высшем свете.

На столичном балу она и познакомилась с товарищем своего брата, юным офицером Ильей Ивановичем Мечниковым. Вскоре они сыграли свадьбу. На этом столичная жизнь молодой пары практически закончилась. Увы, Илья Иванович оказался большим любителем вина и карт, так что небольшое при-

даное супруги растаяло на глазах. Пришлось выйти в отставку и перебраться с семьей в деревню Панасовку (ныне Мечниково) Купянского района Харьковской губернии.

Двух сыновей – Ваню и Леву – оставили в петербургском пансионе для подготовки к поступлению в лицей и школу правоведения, а дочь Катю взяли с собой. В 1843 году у Мечниковых родился сын Николай, а еще через два года, 15 мая 1845-го – Илья, пятый и последний ребенок.

Илья был подвижным мальчиком. Окружающие звали его «ртутью». Его интересовало все: люди, насекомые, природа, игрушки, он быстро переключал внимание с одного на другое, моментально увлекался и мгновенно остывал.

Мальчик был честолюбив – вполне естественно для младшего ребенка в семье, которому постоянно приходится доказывать свою состоятельность.

Жажда лидерства он пронесет через всю жизнь. Но ни разу она не обернулась унижением других. Все современники будут отмечать удивительную доброту Ильи Ильича и в работе, и в быту, а Сеченов за заботливость и ласковость будет звать своего друга «мамой», «мамашей».

Под руководством репетитора Илья составлял первые гербарии, учился определять и классифицировать растения. Уже поступив в харьковскую гимназию, он все карманные деньги тратил на книги по естественной истории.

В гимназии мальчик добился успехов – пожалуй, даже небывалых. Мало того, что он закончил ее с золотой медалью: уже в четвертом классе Илья определил для себя приоритеты и налег на естественную историю, ботанику и геологию. Выучил немецкий, чтобы читать научные новинки. В 15 лет, проштудировав «Отряды и классы животного мира» немецкого палеонтолога Генриха Бронна, Илья заинтересовался миром инфузорий, амёб, корненожек и выбрал будущую специальность.

Без преувеличения, уже в гимназии на первое место в жизни Мечникова вышла наука. С шестого класса Илья слушал лекции по сравнительной анатомии в Харьковском университете. А когда один из профессоров отказался помочь ему исследовать протоплазму, начал брать частные уроки у физиолога Ивана Петровича Щелкова, незадолго до этого вернувшегося из Германии и Австрии. Упорный гимназист даже купил микроскоп и опубликовал свою первую статью об инфузориях в научном журнале.

К окончанию гимназии, в 1862 году, Илья уже сформировался как молодой ученый. Вопрос о том, где продолжать занятия наукой, перед ним не стоял. Конечно, в Германии – там преподавали Рудольф Вирхов (создатель теории клеточной патологии) и Роберт Кох (первооткрыватель возбудителей туберкулеза и холеры). Однако жизнь распорядилась иначе.

В 1862 году Илья поступил в Харьковский университет и сразу стал активно заниматься наукой. Начав исследовать беспозвоночных, которые с одной сторо-

ны походили на коловраток, а с другой напоминали круглых червей, Илья Ильич составил из них промежуточный связующий отряд «брюхоресничных». Сделанное первокурсником открытие в дальнейшем было признано научным сообществом.

Окончив университет за два года, в 1864-м Мечников сдал экзамен в аспирантуру. Молодому ученому всего 19 лет, он, наконец, осуществляет свою мечту: отправляется в Германию – работать над диссертацией. Материал собирает на острове Гельголанд, привлекавшем зоологов богатой фауной. Рассчитывая, что поездка продлится не более двух месяцев, Илья Ильич получил от родителей небольшую сумму денег. Но пребывание в Германии затянулось. Пришлось потуже затянуть пояс. «Вместо квартиры в гостинице, – писал он матери, – я нанял себе комнату у одного рыбака, за которую плачу вдвое дешевле. Вместо обеда и кофе, питаюсь, чем Бог пошлет, издерживая 30 коп. за еду; переменяю белье один или два раза в неделю (за что плачу меньше прачке). Ради Бога не сочти описание моей новой жизни за жалобу или ропот; напротив, я так счастлив».

Тема его научной работы заключалась в доказательстве того, что некоторые беспозвоночные могут служить в эволюционной цепочке звеньями между другими видами и пролить свет на их происхождение.

Вторая поездка Мечникова за границу оказалась более плодотворной. Он работал в Гиссене, Геттингене, Мюнхене, Женеве, Неаполе. Талант молодого ученого привлек внимание ведущих немецких зоологов. Учителя дорожили способным учеником из России, один из них даже присвоил себе его открытие (само по себе это было, конечно, неприятно, но свидетельствовало о том, насколько успешными стали первые опыты Мечникова в науке). Великий русский хирург Николай Пирогов, зная Мечникова только по его работам, исхлопотал для юноши стипендию – 1600 рублей в год. Это позволило молодому ученому работать в лучших лабораториях Европы. В Неаполе Илья Ильич подружился с молодым биологом Александром Онуфриевичем Ковалевским, и они вместе начали изучать механизмы эмбрионального развития организмов, стоящих на разных ступенях эволюции. Результаты этой работы составили фундамент новой науки – сравнительной эмбриологии.

В Неаполе произошла еще одна важная встреча: Мечников познакомился с Иваном Михайловичем Сеченовым. Сам Илья Ильич делал первые, хотя и заметные шаги в науке, а Сеченов уже был автором знаменитой книги «Рефлексы головного мозга», сформировавшей материалистические взгляды целого поколения. Но разница в возрасте и в статусе не помешала их крепкой дружбе, продлившейся всю жизнь.

В 1867 году он отправился обратно в Россию, в Петербург – защищать магистерскую диссертацию и готовиться к профессоруре. Известность его была уже столь велика, что Петербургский университет присудил Мечникову степень магистра сразу, без экзамена, на основании опубликованных им работ.

В 1867 году Мечников и Ковалевский получили премию имени естествоиспытателя Карла Бэра, основоположника эмбриологии. Впоследствии Мечников еще дважды получал эту награду – в 1870 году и в 1891-м, однако первая премия была особой, ведь Илье Ильичу в то время было всего 22 года. Его именovali гордостью русской науки, восходящей звездой, он жил в атмосфере всеобщего восхищения... После получения степени Мечникова избрали доцентом университета, и он переехал в Одессу. Студенты (некоторые были старше его) обожали нового преподавателя. Однако этот внешне триумфальный период оказался и самым трагическим в его жизни, приведшим Мечникова к убежденному, непоколебимому пессимизму и даже к попытке самоубийства. Сложно устроен человек, и годы славы стали годами глубочайшего психического надлома... Некоторые считают это доказательством душевной болезни Мечникова. Кто-то, наоборот, удивлен тем, как Илье Ильичу удалось выстоять под тяжелыми ударами судьбы.

И. И. Мечникову пришлось начать все с «чистого листа». Ученый продолжил карьеру в Петербургском университете, приняв предложение профессора Карла Кесслера – основоположника Российского общества естествоиспытателей – занять место доцента его кафедры. Здесь Илья Ильич защитил докторскую диссертацию (о развитии одного из представителей ракообразных). Однако условия работы в Петербурге оказались гораздо хуже, чем в г. Одессе. Лабораторию пришлось оборудовать самому в холодном музее. Жалование доцента оказалось не таким уж большим для жизни в столице – Мечникову даже пришлось хозяйничать дома самому, без экономки. Зная о его крайне тяжелом положении, Сеченов попытался продвинуть друга в Медицинской академии (где сам он возглавлял кафедру физиологии), рассчитывая, что высокий научный авторитет Мечникова обеспечит ему беспрепятственное избрание на кафедре зоологии. Однако при голосовании Мечников получил 13 черных шаров против 12 белых. «Верьте мне или не верьте, но вслед за этой подлой комедией меня взяло одну минуту такое омерзение, что я заплакал, – писал обескураженный Сеченов Мечникову. – Хорошо еще, что успел вовремя закрыть лицо, чтобы не доставить удовольствия окружающим меня лакеям... Но вместе с тем посмотрите, в какую помойную яму попали бы Вы, будучи избранным». В знак протеста Сеченов ушел из академии, и через некоторое время оба друга начали преподавать в Одессе.

За двенадцать лет в Одессе преподавание так и не стало для него рутинной работой, а мышиная возня в узком университетском мирке – нормой жизни. В своем «Рассказе о том, как и почему я поселился за границей» Мечников писал: «... университет с самого своего основания отличался особенным изобилием неприятных дразг. Все свободное от чтения лекций время профессора проводили в «лектории», где главным образом перетирались косточки товарищей, созидались, укреплялись и разрушались «партии». Научная оцен-

ка кандидатов большей частью подчинялась личным чувствам».

В этот период жизни, когда ему казалось, что карьера рушилась, его постигает еще один удар: от чахотки умирает его первая жена. Для нервного и впечатлительного Ильи Ильича это было чересчур. И он принял весь морфий, оставшийся со времени болезни жены.

Ученый не знал, что передозировка этого яда ведет к рвоте, при которой морфий выводится из организма. Мечников остался жив, но мысли о смерти не покинули его. Однажды, воспользовавшись тем, что близкие ослабили за ним наблюдение, Илья Ильич после горячей ванны облился ледяной водой и вышел на холод в надежде получить воспаление легких.

Именно в этот момент наступил перелом в его самоубийственных настроениях, вторая жена и будущий биограф Мечникова, Ольга Николаевна, впоследствии так писала об этом: «Проходя по мосту, он вдруг увидел насекомых, летающих вокруг пламени фонаря. Он подумал: «Как применить теорию естественного отбора к этим насекомым, когда они живут всего несколько часов, вовсе не питаясь, следовательно, не подвержены борьбе за существование и не имеют времени приспособиться к внешним условиям?» Мысль его направилась к научным вопросам. Он был спасен. Связь с жизнью восстановилась!»

Оправившись, Мечников выбросил запасы наркотика и твердо решил больше не прикасаться к нему. К счастью, через два года Илья Ильич встретил новую любовь, надежного друга и верную спутницу жизни. В доме, где он квартировал, этажом выше проживало шумное семейство Белокопытовых – восемь душ детей от одного до шестнадцати лет.

Так он познакомился со старшей дочерью – Ольгой и для продолжения знакомства избрал «чисто научный способ» – частные уроки. Он встретился с родителями Ольги и убедил их, что шестнадцатилетнюю гимназистку срочно необходимо натаскать в зоологии. Но шила в мешке не утаишь – вскоре ненаучный характер уроков уже ни для кого не был тайной. Состоялся решительный разговор с отцом Оли. Илья Ильич просил у Белокопытовых руки их дочери. Ей исполнилось семнадцать, по тем временам вполне брачный возраст, но по сути Ольга Николаевна была еще ребенком.

Этот брак, несмотря на тринадцатилетнюю разницу в возрасте, оказался счастливым. Ольга Николаевна боготворила мужа, тот души не чаял в юной жене.

Пятнадцать лет отдал Илья Ильич преподаванию – и расстался с ним без особого сожаления. После смерти родителей Ольге Николаевне досталось поместье в Киевской губернии – это позволяло жить и без университетского жалования. Похозяйствуя там первое лето, Мечниковы со всеми детьми Белокопытовых уехали на Средиземное море, в Мессину. Там в конце 1882 года 38-летний ученый совершил главное открытие своей жизни. Шел он к нему долго и, лишь

накопив определенный багаж знаний, сумел увидеть то, что до него не было доступно никому.

В середине 1860-х годов Мечников увлекся проблемой пищеварения отдельной клетки. Его, убежденного дарвиниста, интересовало – на каком этапе эволюции живые существа начали получать энергию, расщепляя питательные вещества не в каждой клетке, а в особой пищеварительной полости? Большинство ученых той поры были убеждены, что многоклеточный организм без пищеварительной полости в принципе невозможен. Мечников считал иначе, и чтобы доказать свою правоту, вводил бесцветным личинкам морской звезды ярко-красный порошок кармина. Некоторые клетки личинок при этом окрашивались – значит, они самостоятельно пытались переварить порошок. Но для чего многоклеточным организмам такое пищеварение?

«Мне пришло в голову, – писал Мечников, – что подобные клетки должны служить в организме для противодействия вредным деятелям. Я сказал себе, что если мое предположение справедливо, то заноза, вставленная в тело личинки морской звезды, не имеющей ни сосудистой, ни нервной системы, должна в короткое время окружиться налезшими на нее подвижными клетками, подобно тому, как это наблюдается у человека, занозившего себе палец. В крошечном садике при нашем доме я сорвал несколько розовых шипов и тотчас же вставил их под кожу великолепных, прозрачных, как вода, личинок морской звезды. Я, разумеется, всю ночь волновался в ожидании результата и на другой день, рано утром, с радостью констатировал удачу опыта. Этот последний и составил основу «теории фагоцитов», разработкой которой были посвящены последующие 25 лет моей жизни».

Опыты Мечникова с личинкой морской звезды, у которой нет ни сосудистой системы, ни кровотока, доказывали другое: «почуяв» неприятеля, лейкоциты сами подбираются к нему, атакуют! Они – часовые и защитники организма. Мечников назвал их фагоцитами-пожирателями клеток. Теперь становилось понятна как выживает многоклеточный организм в окружении враждебных микробов.

Вслед за личинкой морской звезды последовал опыт с дафниями, а вместе с ними и понимание того, как происходит инфицирование организма. Если возбудителей болезни слишком много, клетки-часовые просто не успевают с ними справляться. А место воспаления – это место битвы фагоцитов с агрессорами.

На первых порах эта теория имела очень мало сторонников. Такие научные авторитеты, как Роберт Кох, громили ее во всеуслышание, заявляя на конгрессах, что фагоцитарная теория Мечникова неверна и ее поскорее нужно сдать в архив. Большинство ученых того времени были сторонниками гуморальной теории иммунитета. Они полагали, что организм борется с инфекциями, вырабатывая специальные вещества-антитоксины, а внутриклеточное пищеварение если и играет при этом какую-то роль, то она совершенно ничтожна. Открытие вакцин, бактерицидных свойств

крови и кожи, успехи серотерапии (лечения сыворотками) – все это были серьезные аргументы против теории Мечникова.

Он не отрицал результатов исследований других ученых, но пытался их осмыслить, увязать с основными положениями своей теории. Однако, если нужно, русский ученый давал бой оппонентам. Ученик Пастера и близкий друг Мечникова Эмиль Ру вспоминал: «До сих пор я так и вижу вас на Будапештском конгрессе 1894 года, возражающим вашим противникам. Лицо горит, глаза сверкают, волосы спутались. Вы подходили на демона науки, но ваши слова, ваши неопровержимые доводы вызвали рукоплескания аудитории. Новые факты, сначала казавшиеся противоречившими с фагоцитарной теорией, вскоре приходили в стройное сочетание с нею. Она оказалась достаточно широкой, чтобы примирить сторонников гуморальной теории с защитниками клеточной».

В 1908 году Нобелевская премия была присуждена одновременно Мечникову и Паулю Эрлиху – стороннику гуморальной теории. Это означало: научный мир, наконец, понял, что клеточный и гуморальный механизмы иммунитета дополняют друг друга.

Кстати, споря со своими оппонентами, Мечников попутно сделал еще одно открытие. Он доказал, что даже погибшие фагоциты, разлагаясь, убивают «неприятелей». После разрушения клеточной оболочки фагоцитов высвобождаются особые пищеварительные ферменты – Илья Ильич назвал их цитазами. Следовательно, в клетке-фагоците имеется некая структура, отвечающая за их производство и хранение?

И действительно, в 1949 году бельгийский биохимик (и тоже Нобелевский лауреат) Де Дюв обнаружил субклеточную фракцию, содержащую большое количество расщепляющих ферментов. Де Дюв назвал ее лизосомой – «растворяющей тела». Еще через шесть лет эти частицы удалось увидеть под электронным микроскопом. С тех пор учение о лизосомах – один из краеугольных камней цитологии, науки о клетке.

В этом открытии И.И. Мечников проявил себя как ученый энциклопедист, входящий в когорту великих ученых, работавших сто – сто пятьдесят лет назад. Методический уровень исследований, несопоставимый с нынешним, требовал от человека науки развитой интуиции, способности выводить важные закономерности из немногочисленных экспериментальных данных, и в высшей степени этим качеством был наделен Мечников, ведь в своих книгах *Etudes sur la nature humaine* (Этюды о природе человека, 1903) и *Essais optimistes* (Этюды оптимизма, 1907) он упоминает не только уже удостоенных к тому времени Нобелевских премий Эмиля фон Беринга (Emil von Behring, 1854–1917), Роберта Коха (Robert Koch, 1843–1910) и Пауля Эрлиха (Paul Ehrlich, 1854–1915), но и тех, кому суждено было стать обладателями этой высшей научной награды в будущем: Шарля Рише (Charles Robert Richet, 1850–1935), Жюль Борде (Jules Bordet, 1870–1961), Иоханнеса Фибигера (Johannes Fibiger, 1867–1928) и Пейтона Рауса (Francis Peyton Rous, 1879–1970). На-

помним, что Раус стал лауреатом через 50 лет после кончины Ильи Ильича, а до этого официальные представители научного сообщества упорно сопротивлялись принятию идеи о существовании онковирусов – идеи, которую Мечников принял легко и сразу. Умение увидеть новое в обыденных научных фактах позволило Илье Ильичу реализовать свой талант в различных областях естествознания и медицины.

Открытие фагоцитоза стало основой формирования иммунологии как науки. Мечников осознал, что заложил фундамент нового направления, и это заставит пересмотреть устоявшиеся представления. Сам ученый называл себя позже зоологом, заблудившимся в медицине. Называл, конечно, с известной долей скромности – именно в истории медицины след русского ученого оказался наиболее заметным.

В 1886 году Илья Ильич с охотой откликнулся на предложение возглавить открывшуюся Одесскую бактериологическую станцию – по примеру знаменитой лаборатории Пастера во Франции. Это было прогрессивное начинание Одесской городской управы и Херсонского губернского земства. Заместитель Мечникова Николай Федорович Гамалея отправился в Париж, к Луи Пастеру. Тот (после долгих колебаний) «благословил» наконец работу станции и даже послал в Одессу подарок. Весьма, надо сказать, специфический – это были зараженные бешенством животные. Зато теперь русским ученым не нужно было тратить драгоценное время на культивацию возбудителя.

В 1888 году Мечников И.И. покинул Россию. За границей Илья Ильич обрел наконец-то покой и смог целиком отдаться любимой работе.

Помимо защиты своей фагоцитарной теории он серьезно занялся холерой. Правда, после того как его ученик, врач Владимир Аронович Хавкин в 1893 году разработал вакцину против холеры, Мечников охладел к этой теме.

Однако во время исследований Илья Ильич обратил внимание на то, что кишечник живых существ буквально насыщен гнилостными микроорганизмами, и разработал методику экспериментов над животными, стерильными в микробном отношении, взяв за образец кроликов-сосунков.

Конечно, факт наличия гнилостных бактерий в организме может впечатлить кого угодно, даже если не принимать во внимание бескомпромиссный эволюционизм Мечникова и его впечатлительную натуру. Все это привело Илью Ильича к абсолютизации обнаруженного «зла». Толстый кишечник человека ученый объявил атавизмом, а коль скоро напрашивающаяся операция по его удалению весьма опасна, то борьбу надо вести микробиологическим путем. Антагонистом кишечной палочки является палочка молочнокислая. Значит, необходимо насытить пищу культурой второй, ликвидировав первую. И продолжительность жизни возрастет! Чрезмерная категоричность такого подхода сегодня на поверхности, но век назад все было не столь очевидно. К тому же достоверно известно, что изменение кишечной флоры

при употреблении кисломолочных продуктов благотворно сказывается на организме. Так что Мечников недаром пропагандировал «болгарскую простоквашу», ныне известную как йогурт.

В Париже Мечников сделал еще одно открытие, по своей важности, пожалуй, не уступающее фагоцитарной теории, но оцененное позднее. Его вечные оппоненты, сторонники гуморальной теории, тщателью изучили выработку организмом антител к микробам. Илья Ильич сделал следующий шаг: доказал, что антитела вырабатываются не только к микробам, но и к любым чужеродным клеткам. Эти антитела ученый назвал цитотоксинами. Трудно сказать, почему он не продолжил исследования – возможно, не видел практического применения своему наблюдению? Мечников счел открытие интересным, но не более того. (А через полвека медицина вплотную занялась аутоиммунными заболеваниями, при которых цитотоксины разрушают клетки собственного организма.)

Его самые известные широкой публике работы – это «Этюды о природе человека» (1903), «Этюды оптимизма» (1907), «Сорок лет искания рационального мировоззрения» (1913). В них ученый выразил отношение к проблемам жизни и смерти, долголетия и старения, старался дать ответ на вопросы, почему несовершенен человек и как достичь совершенства. Мечников был убежден, что человек может жить дольше, тогда переход к смерти будет безболезнен и естествен. Исследуя случаи, когда люди отходят в мир иной без мучений, ученый сделал вывод: это возможно лишь при устранении главных противоречий человеческого бытия – между долго не угасающим половым инстинктом и довольно быстро угасающей способностью к размножению и между жадой жизни и способностью жить. Он ввел термин ортобиоз – «правильная жизнь». Когда жажда жизни уступит место инстинкту естественной смерти, человек умрет – словно уснет. Тем самым Мечников заложил основы науки о смерти – танатологии. В конце

жизни Илья Ильич разрабатывал своеобразную медико-философскую систему.

Философские труды Мечникова вызвали большой интерес у современников, несмотря на отрицательные отзывы, например, Льва Толстого. Кстати, несмотря на расхождения во взглядах, Толстой и Мечников все же встретились, когда Илья Ильич в мае 1909 года, после получения Нобелевской премии, приехал в Россию. Встреча прошла довольно тепло, но закончилась, по сути, ничем. Мечников пишет: «Когда мы со Львом Николаевичем поднялись в его рабочий кабинет, он, пристально посмотрев на меня, спросил: «Скажите мне, а зачем вы, в сущности, приехали сюда?» Однако научный авторитет Мечникова Толстой признавал. «Простоквашу вашу я пью и обещаю прожить до ста лет», – сказал он, прощаясь.

В 1913 году Мечникова просили возглавить в России Институт экспериментальной медицины. Он ответил: «Прочитав ваше дружеское письмо, я расчувствовался, и у меня зашевелилось в душе чуть не желание вернуться в Россию. Но после зрелого размышления я решил, что было бы невозможно. Посудите сами: мне скоро минет 68 лет. Это такой возраст, когда стариков нужно гнать в шею. Где же мне переселяться на новое место и взяться за управление институтом, которое и ранее мне было не по силам». Здоровье его действительно пошатнулось. В том же году Илья Ильич перенес инфаркт, а еще через три года, 15 июля 1916-го, после приступа сердечной астмы, скончался. Урна с его прахом, согласно воле Мечникова, установлена в библиотеке Пастеровского института.

В последние два года жизни Мечников почти не занимался наукой. Начавшаяся первая мировая война не способствовала экспериментам. Он задумал книгу об основателях современной медицины – Пастере, Листере, Кохе. «Следует надеяться, – чуть наивно писал он во вступлении, – что эта беспримерная бойня надолго отобьет охоту воевать и драться и вызовет в непродолжительном времени потребность более разумной работы».

ILJA MECHNIKOV – THE SCIENTIST, PHILOSOPHER, ROMANTICIST

A.V. Shabrov

Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy

Shabrov A.V. I.I. Mechnikov – The scientist, philosopher, romanticist // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 12–13.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

Ilja Mechnikov was a brilliant representative of a cohort of the future Nobel prize winners. He was famous for his erudition and unusual scientific knowledge. He worked in the best laboratories of Germany and France – world leaders of that time in the field of natural sciences. His social ability, a gift to be an interesting communicator

and perfect mastering of French and German languages allowed him to come into easily personal contacts with leading scientists of these two countries at the time when the states were in permanent mutual enmity which quite often grew into attempts to ignore even scientific achievements of the neighbours. Mechnikov had involuntarily to

carry out a link function between scientific schools of French and German speaking nations. Thanks to the translations of the scientific articles made by Mechnikov from French language into German and vice versa, the scientific community of Europe had an opportunity to get acquainted with the results of work of their colleagues. Ilja Mechnikov was one of the first Europeans in a modern meaning of the world. Ignoring the political storms shaking continent, he successfully united the ideas of scientists of Russia, Germany and France. Fortunately, after Robert Koch's great discovery, the spirit of voluntary mutual alienation began to leave in the past.

Ilja Mechnikov devoted 25 years to the development of the theory of phagocytosis thanks to which it became clear how multicellular organism surrounded by hostile microbes survives. At the beginning this theory had very few supporters. The majority of scientists of that time believed that an organism fights against infections, forming special substances-antitoxins. In 1908 the Nobel Prize was awarded simultaneously to Mechnikov and Paul Ehrlich, a supporter of humoral theory. It meant: the scientific world at last understood that cellular and humoral immunity mechanisms help each other. By the way, arguing with his opponents, Mechnikov made one more discovery. He proved that even dead phagocytes, while decaying, kill «enemies». After destruction of a cellular coat of phagocytes special digestive enzymes are released. Ilja Mechnikov named them *citasas*. Hence, in a phagocytic cell there is a certain structure which is responsible for their production and storage. And really, in 1949 a Belgian biochemist (and also Nobel winner) De Djuv found subcellular fraction containing a considerable quantity of splitting enzymes. The doctrine about lysosomas became one of the corner-stones of cytology.

The theory creation of phagocytosis was the main but not the single large achievement of Mechnikov. For example, his idea that antibodies are developed not only against microbes, but also against any alien cells. This theory predetermined studying of pathogenesis of autoimmune diseases.

Mechnikov is an ancestor of the concept of probiotics. He was the first to show the relationship of the protection of the human body from intestinal infections with lactic acid bacilli. It was in his laboratory on a basis of lactobacil-

lus strain of Bulgarian rod that world-wide known lactobacillin was created. Fireworks of Mechnikov's discoveries in a field of microbiocenosis of higher organisms and correct definition of huge medical potential of microbic components of ordinary food did not convince scientific community at that time. Ilja Mechnikov's formulated concept about usefulness of microbic antagonism for health of the people received confirmation already in the second half of the XX-th century. Developing the idea about the role of lactobacillus for maintaining person's health, Mechnikov formulated the theory of ageing of the body and specified ways of increasing life expectancy. In this field the authority of Mechnikov was recognised even by Lev Tolstoi who did not believe in any authorities. Tolstoy said: «I drink your curdled milk and promise to live till a hundred years». The tasks of prolongation of life were formulated by Mechnikov in his Wild lecture «About flora of a human body», delivered in 1901 in Manchester at the session of literary-philosophical society; so Ilja Mechnikov laid the foundation for gerontology.

It is necessary to recognise Mechnikov as a talented and original philosopher. His biologo-philosophical works such as «Etudes on nature of the human body», «Etudes of Optimism» and materials in the collection «Forty years of search of rational outlook» (1913) testify about his original systems of perception of the world.

The world recognition of Mechnikov as one of the leaders of natural sciences found its reflexion that by the end of life Ilja Mechnikov became the honourable doctor of the Cambridge university, a foreign member of the London Royal society, a member of the Parisian Medical academy, the honorary member of Petersburg, Paris, Vienna, Belgian and other academies of sciences, the gentleman of an award of the Honourable Legion, and he also had awards of Russia, Italy, Japan, Serbia and other countries.

During the last two years of his life Mechnikov did not perform any investigations. The beginning of the First World War did not support any experiments. He conceived the book about founders of modern medicine – Pasteur, Lister, Koch. He fondly wrote in the introduction: «We should hope that this unprecedented slaughter-house for a long time will discourage to be at war and fight and will cause in a short time the necessity for a more reasonable work».

Professor Alexander SHABROV,

St.-Petersburg State Medical academy named after I.I. Mechnikov, St.-Petersburg, Russia

© Хельмут Хан, 2008

© Helmut Hahn, 2008

ПАУЛЬ ЭРЛИХ – ВЫДАЮЩИЙСЯ УЧЁНЫЙ

Хельмут Хан*Берлинское медицинское общество*

Хан Хельмут Пауль Эрлих – выдающийся учёный // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 14–16.

Берлинское медицинское общество

Hahn Helmut Paul Ehrlich: Der rationale Wissenschaftler // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 14–16.

Выражаю благодарность за честь, оказанную мне, приглашением на 6-ой российско-германский общий форум, посвященный важнейшим открытиям этого великого учёного, имевшим большое значение для развития современной медицинской науки. Это особая честь для меня, как нынешнего председателя Берлинского медицинского общества, поскольку Пауль Эрлих был связан с нашим обществом. Во-первых, он являлся почетным членом нашего общества в 1908 году и, во-вторых, 13 февраля 1907 он выступил перед медицинским Берлинским обществом с докладом «Специфическая химиотерапия трипаносом», который открыл дорогу целой эпохе и который можно назвать самым главным докладом всей его жизни. В нем нашли развитие его мысли о специфическом лечении инфекций и таким образом были заложены основы современной химиотерапии.

От имени Берлинского медицинского общества я передаю вам сердечный привет от берлинских коллег, всех специалистов по иммунологии и химиотерапии Германии.

Тому, кто сегодня изучает труды Пауля Эрлиха, и сейчас, спустя 90 лет после его смерти, кажется, что все мысли о современной химиотерапии были уже высказаны этим великим ученым. Во многих областях медицины до сих пор чувствуется влияние его идей. Оригинальность его идей в области, основанных им химиотерапии и иммунологии не имеют аналогов во всём мире.

Научную деятельности Пауля Эрлиха можно тематически разделить на 3 больших периода.

1. В первом периоде преобладает изучение красителей разного рода, что в значительной степени способствовало формированию современной гистохимии.

Пауль Эрлих дифференцирует своими методами окрашивания гистологию крови и тем самым создаёт основу для современной клеточной гематологии.

Для него особенно важным представляется поле прижизненного окрашивания клеток, которое он сознательно выбрал для обработки. Процесс описывается им следующим образом: «Если хочется узнать свойства живых клеток, надо окрасить нормальные ткани на высоте их функции, т. е. нужно перенести акт окрашивания внутрь организма»

Новая информация была получена, прежде всего, благодаря использованию красителей с разными окислительно-восстановительными потенциалами, которые могут реверсивным способом восстанавливаться и окисляться живыми клетками. Разработка теоретических основ этих методов для измерения жизненно важных химических реакций намного опередила свое время.

По всеобщему мнению монография Пауля Эрлиха «Потребность организма в кислороде», опубликованная в 1885, интуитивно предопределила направление дальнейшего научного пути, научное кредо 31-летнего исследователя. Благодаря этой монографии в 1887 году Пауль Эрлих получил разрешение читать лекции на медицинском факультете Берлинского университета. В этой работе Эрлих предугадал многое, что позже было подтверждено и получило дальнейшее развитие. Слова Гельмгольца, с восхищением говорившего об интуиции Фарадея: «У него есть нюх на правду», можно по праву отнести и к нему.

2. Исследования, относящиеся ко второму периоду, характеризуются преобладанием иммунологических исследований и были тесно связаны с открытием Робертом Кохом специфической этиологии инфекционных заболеваний.

Пауль Эрлих, страдавший в течение двух лет туберкулезом, исследовал эффективность маленьких доз туберкулина для предупреждения туберкулеза легких. При экспериментальных исследованиях механизма иммунитета он обнаружил, что не только токсины бактерий, но также и яды растений, таких как рицин и абрин вырабатывают иммунные тела.

После открытия Эмилем фон Берингом антитоксинов Пауль Эрлих пытался выявить закономерности, играющие важную роль при реакции «антиген-антитела». Он установил, что повреждающие клетку антитела, особым образом прикрепляются к клеточному субстрату, и разработал улучшенные методы насыщения организма специфическими антителами в терапевтических целях путем математических вычислений соотношения количества введенного антигена и количества выработанных антител.

В процессе работы над распределением и действием в организме биологически активных соединений, прежде всего токсинов, он сформулировал пер-

вую химическую интерпретацию иммунологических реакций – «теорию боковых цепей». При обосновании своей теории Пауль Эрлих исходил из того, что чужеродная субстанция должна войти в соприкосновение с органом, клеткой или клеточной органеллой для того чтобы изменить их функцию. Латинская фраза «*Corpora non agunt nisi fixata*» стала главной идеей теории исследователя, которая также легла в основу его более поздних представлений о химиотерапии. «Боковые цепи» Пауль Эрлих позже назвал рецепторами и тем самым ввел термин до сих пор признаваемый современной биологией. Но его мучили сомнения, можно ли обобщить его представления. В своем докладе «Порционные функции клетки» при получении Нобелевской премии в 1909 году в Стокгольме он сказал об этом следующее: «Более сложным является вопрос, допустимо ли предположение, что в клетке имеются такие преформированные хеморецепторы, на которые могут воздействовать имеющиеся лекарства». Сегодня обнаружены белковые рецепторы к многочисленным гормонам в мембранах клеток-мишеней. Расширение этой области исследований в последние годы позволяет понять, какой важный толчок дал Пауль Эрлих тем, что обозначил рецептор как место первичной реакции лекарственного препарата со специфически чувствительной клеткой органа-мишени.

3. После вручения Нобелевской премии в 1908 году, которую он получил совместно с И.И. Мечниковым за работы по иммунологии, судьба отвела Паулю Эрлиху всего лишь 7 лет для завершения третьего периода его деятельности.

В этот период он разработал новые лекарственные средства против инфекционных болезней, дал определение введенному им термину «химиотерапия» и, в итоге, открыл сальварсан, высоко эффективный препарат в борьбе с сифилитическими заболеваниями.

И если бы не его смерть в 1915 году, то вполне вероятно он бы получил Нобелевскую премию во второй раз.

Беспомощность врачей в борьбе с инфекционными болезнями в начале прошлого века была удручающей. В тот момент, когда Эрлих предпринял попытки улучшения этой, казалось бы, безнадежной ситуации, и тем самым предвещал новый этап борьбы с инфекционными болезнями, не было ни одного целенаправленно действующего лекарства против бактериальных инфекций. Множественные неудачные попытки с помощью иммунотерапии защитить организм от смертельно протекающих инфекций, побудили Эрлиха к новым исследованиям в области химиотерапии.

Все исследования проводились в институте экспериментальной терапии или в доме Георга Шпайера во Франкфурте на Майне, который и сегодня служит науке.

Введенный Паулем Эрлихом термин «химиотерапия» не является полным без прилагательного «специфический».

Как известно, ученый в последние годы занимался преимущественно иммунотерапией. Конечно же, Эрлих хорошо знал и другие области фармакологии, в

которых также используются химические соединения в терапевтических целях, так как он долгие годы работал в качестве клинического ассистента у профессора Фрерихса в Берлинской клинике Шарите.

Однако он был не совсем согласен с применяемыми тогда на практике результатами исследований, что он и отметил в рецензии для Берлинского медицинского факультета в 1907 году. Он писал: «Несмотря на напряженную работу, проводимую десятилетиями и многими учеными, мы добились лишь устранения симптомов заболеваний, но не получили эффекта исцеления, в прямом смысле этого слова, как например, в случае с хинином, применяемым против малярии. Но это как раз и есть высшая цель искусства врача». Это входило в противоречие с его исследованиями, и он настаивает на создании кафедр экспериментальной терапии. Но, к сожалению, это требование не получило отклика.

В своем известном докладе «Химиотерапия трипаносом» прочитанном 13 февраля 1907 года на заседании Берлинского медицинского общества, ученый обосновывает лейтмотив своих терапевтических представлений словами: «То, что мы хотим, это и есть специфическая химиотерапия, т. е. мы ищем химические средства, которые с одной стороны поглощаются определенными паразитами, и которые в состоянии их убивать, но с другой стороны, организм может переносить их без особого вреда в количествах необходимых для их уничтожения». Тем самым высказан принцип селективной токсичности «магического шара», который избирательно повреждает «незваного гостя», но защищает ткань хозяина.

С точки зрения фармакологии Эрлих предоставил базу для установления терапевтического спектра действия лекарственного препарата. Чем больше разница между лечебной и токсической дозами, тем лучше для терапии. Даже если лишь неосальварсан в значительной степени смог соответствовать требованиям безопасности, то уже опыты Эрлиха с сальварсаном доказали, что благодаря систематическому изменению структуры органических соединений, содержащих мышьяк удастся повысить терапевтический эффект и уменьшить побочные действия. Это явилось первым явным доказательством существования связей между химической структурой и фармакологическим действием.

Заслуга Эрлиха заключается также в том, что он благодаря стандартизации опытов на животных осуществил проверку вновь изготовленных соединений на их химиотерапевтическую эффективность. Тем самым он создал основы для «скрининга». Другим счастливым обстоятельством, которое ему в этом помогло, стало обнаружение возможности передачи трипаносом белым мышам и другим подопытным животным, которые позволили ему быстро распознать наиболее эффективные химические соединения.

Часто недооценивался тот факт, что Эрлих критиковал испытание лекарственных средств на человеке, очень ответственно относясь к этому вопросу. Эрлих

делал определенные выводы по поводу побочных действий препаратов и писал следующее: «Если подумать, что больше половины всех применяемых лекарственных препаратов даже в небольших количествах могут вызвать побочные действия, то следует всегда считаться с тем, что эти побочные явления могут принимать очень тяжелые формы». Он особо подчеркивал, что окончательную оценку эффективности лечения можно дать лишь спустя многие годы и уже в то время выдвигал идею о создании специального метода, который лишь десятилетия спустя, стал широко применяться в «мониторинговой системе лекарственных препаратов». Эрлих постоянно отмечал необходимость тщательного взвешивания соотношений полезного и вредного действия лекарства. Лишь таким образом можно заметить различие между допустимым и недопустимым риском, которое имеет значение и с юридической точки зрения.

В работе «Тактика практической апробации лекарственных средств» он уже в 1910 году высказывался по этой проблеме следующим образом: «Как хирург оценивает степень опасности заболевания и смертность во время операции, так и химиотерапевт должен предупредить пациента о возможности побочных действий и частоте возникновения».

Эрлих также осознавал, что при химиотерапии происходит повышение устойчивости возбудителей инфекции, и он обнаружил, что устойчивость к химическим воздействиям микроорганизмов является специфической. Его мысли об изменении ингибитор-сенситивного рецептора, который приводит к снижению агрессивности химиотерапевтического средства, позже были полностью подтверждены современными биохимическими методами, например, как в случае с золотистым стафилококком, устойчивым к метициллину.

Также всеобщее признание нашло доказанное Эрлихом создание устойчивости клетки к химиотерапевтическому средству на основании уменьшения ее проницаемости, например, при заражении синегнойной палочкой.

В тот период никто кроме Эрлиха не занимался разработкой подобной теории. Лишь его систематические исследования дали первый толчок почти революционному развитию новых химиотерапевтических средств в этом веке. «Учиться попадать в цель путем химических вариаций», – любил говорить Эрлих. Этими словами руководствовались его последователи, используя его методы, благодаря которым удалось обнаружить лекарственные средства, эффективные для лечения других инфекций.

PAUL EHRLICH: DER RATIONALE WISSENSCHAFTLER

Helmut Hahn

Berlin Medical Association

Hahn Helmut Paul Ehrlich: Der rationale Wissenschaftler // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 16–18.

Ich danke sehr herzlich für die ehrenvolle Einladung, anlässlich unserer 6. gemeinsamen deutsch – russischen Tagung an die wichtigsten Entdeckungen dieses großen Gelehrten zu erinnern, die für die Entwicklung der modernen medizinischen Wissenschaft von entscheidender Bedeutung waren. Als derzeitigem **Vorsitzenden der Berliner Medizinischen Gesellschaft** ist mir diese Aufgabe eine besondere Ehre, denn Paul Ehrlich ist in zweifacher Hinsicht mit der Berliner Medizinischen Gesellschaft verbunden: Zum ersten war er Ehrenmitglied unserer Gesellschaft (1908) und zum zweiten hielt er seinen epochenmachenden – ja, ich möchte sagen – wichtigsten Vortrag überhaupt vor der Berliner Medizinischen Gesellschaft. Am 13.02.1907 nämlich hielt er den Vortrag «Spezifische Therapie chemotherapeutische Trypanosomen» vor der Berliner Medizinischen Gesellschaft. In diesem Vortrag entwickelte er seine Gedanken über die spezifische Therapie von Infektionen und legte damit die Grundlagen der modernen Chemotherapie.

Im Namen der Berliner Medizinischen Gesellschaft überbringe ich Ihnen die herzlichsten Grüße der Berliner

Kollegen und darüber hinaus aller Spezialisten der Immunologie und Chemotherapie in Deutschland.

Wer das von Paul Ehrlich hinterlassene Werk heute, mehr als 90 Jahre nach seinem Tode, studiert, gewinnt den **Eindruck, als ob alle Gedanken der modernen Therapie im Prinzip von ihm schon ausgesprochen worden wären**. In vielen Gebieten der Medizin trifft man auch heute noch auf die Auswirkungen seiner Ideen. Seine Originalität auf den Gebieten der von ihm begründeten Chemotherapie und der Immunologie sucht ihresgleichen.

Vom Thema her lassen sich im wissenschaftlichen Werk Paul Ehrlichs **drei große Perioden** voneinander abgrenzen.

Die erste wird beherrscht durch farbenanalytische Studien verschiedener Art, die den Aufbau der modernen Histochemie in entscheidender Weise gefördert haben. Paul Ehrlich differenziert mit seinen Färbemethoden die Histologie des Blutes und schafft damit die Basis für die moderne Zelluläre Hämatologie.

Er selbst hält das von ihm zielbewusst bearbeitete Feld der Vitalfärbung der Zellen für besonders wichtig und be-

schreibt den Vorgang mit folgenden Worten: „Will man die Eigenschaften der lebenden Zelle kennenlernen, so muss man die normalen Gewebe mitten auf der Höhe ihrer Funktion anfärben, d. h. den Färbungsakt in den Organismus selbst verlegen».

Neue Erkenntnisse wurden vor allem durch Verwendung von Farbstoffen mit verschiedenen Redox-Potentialen erreicht, die durch die lebende Zelle in reversibler Weise reduziert und oxidiert werden können. Die Ausarbeitung der theoretischen Grundlagen dieser Methoden zur Messung vitaler chemischer Umsetzungen war damals völlig neu und von der Idee her seiner Zeit weit voraus.

Es besteht Übereinstimmung, dass in der 1885 publizierten Monographie Paul Ehrlichs „Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus«eine intuitiv erfasste Disposition für das spätere Lebenswerk, eine Art von wissenschaftlichem Gesamtbekenntnis des damals erst 31 Jahre alten Forschers, vorliegt. Mit diesem Schriftsatz erwarb er 1887 die *venia legendi* an der Medizinischen Fakultät der Berliner Universität. Paul Ehrlich hat in dieser Arbeit vieles vorweggenommen, was später bestätigt und weiterentwickelt wurde. Es gilt von ihm, was Helmholtz in seiner Bewunderung über Faradays Intuition gesagt hat: „Er riecht die Wahrheit! «

Das Arbeitsgebiet der zweiten Periode wird von immunologischen Untersuchungen beherrscht und hängt eng mit der Entdeckung der spezifischen Ätiologie der Infektionskrankheiten durch Robert Koch zusammen. Paul Ehrlich, der selbst eine zweijährige Erkrankung durch Tuberkulose hinter sich hatte, beschäftigte sich zunächst mit der Wirksamkeit kleiner Tuberkulin-Dosen zur Verhütung tuberkulöser Lungenerkrankungen. Er entdeckte bei seinen experimentellen Untersuchungen über den Mechanismus der Immunität, dass nicht nur Toxine aus Bakterien, sondern auch pflanzliche Gifte wie Ricin und Abrin Immunkörper erzeugen.

Nach der Entdeckung der Antitoxine durch Emil von Behring versuchte Ehrlich, die Gesetzmäßigkeiten aufzuklären, die bei den Antigen- / Antikörper-Reaktionen eine Rolle spielen. Er stellt fest, dass zellschädigende Antikörper in spezifischer Weise an Zellsubstrate gebunden werden und entwickelt auf Grund mathematischer Überlegungen über das Mengenverhältnis des zugeführten Antigens zu der Antikörper-Produktion verbesserte Methoden zur Anreicherung von spezifischen Antikörpern für Zwecke der Therapie.

Im Verlauf seiner Arbeiten über die Verteilung und Wirkung biologisch aktiver Verbindungen, vor allem auch der Toxine, im Organismus, begründete er seine Seitenketten-Theorie. Die Seitenketten-Theorie geht von dem Gedanken aus, dass eine körperfremde Substanz mit einem Organ, einer Zelle oder einer Zellorganelle in Berührung kommen muss, um eine Änderung der Funktion herbeizuführen. „*Corpora non agunt nisi fixata*«war Ehrlichs Leitgedanke, der zugleich auch die Basis für seine später entwickelten Vorstellungen über Chemotherapie lieferte. Die Seitenketten bezeichnete Ehrlich später als Rezeptoren und führte damit einen heute in der modernen Biologie allgemein anerkannten Begriff ein.

Dennoch plagten ihn selbst noch erhebliche Zweifel, ob sich seine Vorstellungen generalisieren lassen. In seinem Nobel-Vortrag „Über Partialfunktionen der Zelle«1909 in Stockholm, äußerte er sich darüber mit folgenden Worten: „Viel schwieriger ist die Frage, ob denn auch für die große Zahl der wirklichen Arzneimittel in der Zelle solche präformierten Chemorezeptoren anzunehmen sind«. Heute sind Rezeptorproteine für zahlreiche Hormone in den Membranen der Zielzellen nachgewiesen. Die enorme Ausweitung dieses Forschungsgebietes in den letzten Jahren lässt erkennen, welchen wichtigen Anstoß Ehrlich mit dem von ihm postulierten Rezeptor als dem Ort der Primärreaktion des Pharmakons mit der spezifisch sensitiven Zelle des Erfolgsorgans gegeben hat.

Nach der Verleihung des Nobel-Preises im Jahre 1908, den er zusammen mit Metchnikoff für seine immunologischen Arbeiten erhielt, bleiben Paul Ehrlich nur noch sieben Jahre Zeit für die Vollendung der dritten Periode seines Schaffens. In dieser hat er neue Heilmittel gegen Infektionskrankheiten entwickelt, den von ihm geschaffenen Begriff der Chemotherapie definiert und schließlich auch das gegenüber syphilitischen Erkrankungen hochwirksame Salvarsan entdeckt. Mit Sicherheit wäre ihm für diese Leistung ein 2. Mal der Nobelpreis verliehen worden, wenn dieser nicht sein vorzeitiger Tod im Jahr 1915 zuvor gekommen wäre.

Die Hilflosigkeit des Arztes gegenüber Infektionskrankheiten war zu Beginn dieses Jahrhunderts bedrückend. Es gab kein einziges gezielt wirksames Pharmakon gegen bakterielle Infektionen, als Ehrlich mit seinen Versuchen zur Verbesserung dieser scheinbar hoffnungslosen Situation begann und damit eine neue Ära zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten einleitete. Seine chemotherapeutischen Arbeiten wurden u. a. auch durch die inzwischen gewonnene Erkenntnis angeregt, dass es in vielen Fällen nicht gelungen war, den Organismus durch eine Immuntherapie vor tödlich verlaufenden Infektionen zu schützen.

Alle Untersuchungen wurden im Institut für experimentelle Therapie bzw. im Georg-Speyer-Haus zu Frankfurt am Main durchgeführt, das auch heute noch für die medizinischen Wissenschaften genutzt wird.

Der von Paul Ehrlich eingeführte Begriff der Chemotherapie ist ohne das von ihm hinzugefügte Adjektiv „**spezifisch**«unvollständig. Ehrlich hat sich bekanntlich in der vorausgegangenen Arbeitsperiode überwiegend der Immuntherapie gewidmet. Natürlich waren Ehrlich auch die übrigen Gebiete der Pharmakologie vertraut, die ja ebenfalls chemische Verbindungen zur Therapie verwendet, denn er hatte lange Jahre als klinischer Assistent von Prof. Frerichs an der Berliner Charité gearbeitet.

Allerdings war er mit der damals praktizierten Forschungsrichtung offenbar wenig einverstanden, was er in einem Gutachten für die Berliner Medizinischen Fakultät im Jahre 1907 mit folgenden Worten zum Ausdruck bringt: „Trotz der angestrengten Arbeit von Jahrzehnten und tausender Intelligenzen haben wir doch nur Symptomata erzielt; keine Heileffekte im wahren Sinne des Wortes, wie ein solches des Chinin gegenüber der Malaria. Das

ist aber das höchste Ziel ärztlicher Kunst. «Er stellt den Gegensatz zu seiner Arbeitsrichtung heraus und fordert die Einrichtung von Lehrstühlen für experimentelle Therapie, leider ohne Resonanz.

In seinem berühmten Vortrag über „Chemotherapeutische Trypanosomenstudien«**am 13.02.1907 in einer Sitzung der Berliner Medizinischen Gesellschaft** begründet er das Leitmotiv seiner therapeutischen Vorstellungen mit den Worten: „Was wir wollen, ist eine Chemotherapie specifica, d. h. wir suchen chemische Mittel, die einerseits von bestimmten Parasiten aufgenommen werden und dieselben abzutöten imstande sind, die aber andererseits in den zur Abtötung nötigen Mengen von dem Organismus ohne zu großen Schaden vertragen werden. «Hiermit ist das Prinzip der selektiven Toxizität von der „magischen Kugel«ausgesprochen, die selektiv den Eindringling schädigt, aber das Wirtsgewebe schützt.

Damit lieferte Ehrlich im Sinne des Pharmakologen die Grundlagen zur Feststellung der therapeutischen Breite eines Arzneimittels. Je größer der Abstand zwischen curativer und toxischer Dosis, umso besser für die Therapie. Auch wenn erst das Neosalvarsan die Forderungen nach weitgehender Unschädlichkeit erfüllen konnte, so lieferten die Salvarsan-Versuche Ehrlichs doch den eindeutigen Beweis dafür, dass es durch systematische Änderung der Struktur organischer arsenhaltiger Verbindungen gelingt, die therapeutischen Wirkungen zu steigern und die Nebenwirkungen zu mindern. Dies war der erste klare Beweis für die Existenz von **Beziehungen zwischen chemischer Struktur und pharmakologischer Wirkung**.

Ehrlichs Verdienst besteht auch darin, dass er durch **Standardisierung der Tierversuche** eine Prüfung von neu hergestellten Verbindungen auf ihre chemotherapeutische Wirksamkeit möglich gemacht hat. Damit schuf er die Grundlagen für das „screening«. Ein weiterer glücklicher Umstand, der ihm dabei zu Hilfe kam, war die Entdeckung der Übertragbarkeit von Trypanosomen auf weiße Mäuse und andere Versuchstiere, die ihm eine schnelle Erkennung der wirksamsten Verbindungen ermöglichte.

Es ist oft verkannt worden, dass Ehrlich die Anwendung der Substanzen beim Menschen mit großer Kritik und verantwortungsbewusster Sorge verfolgte. Aus den Nebenwirkungen zog er die Konsequenzen so schrieb: „Wenn man bedenkt, dass mehr als die Hälfte aller angewandten Arzneistoffe selbst in kleinen Mengen Nebenerscheinungen hervorrufen kann, so wird man mit dieser

Möglichkeit immer zu rechnen haben, dass dieselben bei ihrem stark wirksamen Charakter übermäßig schwere Formen annehmen können. «Er betonte ausdrücklich, dass erst nach langen Jahren ein definitives Urteil über den Wert der Therapie abgegeben werden kann und forderte bereits eine Einrichtung, die sich erst Jahrzehnte später in Gestalt des „drug monitoring system«weltweit durchsetzen konnte.

Ehrlich hat stets betont, dass es darauf ankommt, Art und Häufigkeit der **nützlichen und schädlichen Wirkungen** sorgfältig gegeneinander abzuwägen. Nur so lässt sich eine Differenzierung zwischen erlaubtem und nicht vertretbarem Risiko erreichen, die auch juristisch von Bedeutung ist.

In einem Aufsatz, mit dem Titel „Taktik bei der praktischen Arzneimittelprüfung«, äußerte er sich schon im Jahre 1910 zu diesem Problem in folgender Weise: „Wie der Chirurg genau abwägt zwischen der Gefahr der Erkrankung und der Unfallziffer der Operation, so muss auch der Chemotherapeut dem Patienten sagen können, welche Nebenwirkungsmöglichkeiten bestehen und wie häufig sie vorkommen«.

Ehrlich war sich auch bewusst, dass es unter der Chemotherapie zu einer **Resistenzsteigerung** der Infektionserreger kommt und er fand, dass die Chemoresistenz der Mikroorganismen spezifisch ist. Seine Anschauung über eine **Veränderung des hemmstoff-sensitiven Rezeptors**, der zu einer Herabsetzung der Avidität des Chemotherapeuticums führt, wie er es nennt, sind später mit modernen biochemischen Methoden in vollem Umfange bestätigt worden, z. B. im Falle von MRSA (Methicillin-resistente Staphylococcus aureus).

Auch die von Ehrlich bereits nachgewiesene Erzeugung einer Resistenz auf Grund einer **verminderten Permeabilität der Zelle** für das Chemotherapeuticum hat allgemeine Anerkennung gefunden, z. B. bei *Pseudomonas aeruginosa*.

Kein anderer hat neben ihm zu jener Zeit ähnliche Vorstellungen entwickelt. Seine systematischen Forschungen allein gaben den Anstoß für eine fast revolutionäre Entwicklung neuer Chemotherapeutica in diesem Jahrhundert. „**Zielen lernen durch chemische Variation**«, wie Ehrlich es nannte, davon haben seine Nachfolger profitiert, die seine Methoden übernahmen, so dass schließlich auch die Entdeckung von wirksamen Substanzen zur Behandlung weiterer Infektionen gelang.

© Ханс Йорнвал, 2008

© Hans Jörnval, 2008

НОБЕЛЕВСКАЯ ПРЕМИЯ В ОБЛАСТИ ФИЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ

Ханс Йорнвал

Кафедра Медицинской Биохимии и Биофизики, Каролинский институт, Стокгольм, Швеция

Нобелевская Ассамблея в Каролинском институте, Стокгольм, Швеция

Йорнвал Ханс. Нобелевская премия в области физиологии и медицины // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 19–20.

Кафедра Медицинской Биохимии и Биофизики, Каролинский институт, Стокгольм, Швеция

Нобелевской Ассамблеи в Каролинском институте, SE-171 77, Стокгольм, Швеция, e-mail: Hans. Jornvall@ki.se

Jörnval Hans The Nobel Prize in Physiology or Medicine // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 19–20.

В соответствии с завещанием Альфреда Нобеля, Нобелевские премии присуждаются в пяти областях науки: в области физики, химии, физиологии или медицине, литературе и мира. В завещании, подписанном в 1895 году, Каролинский институт указывается как учреждение, присуждающее премию в области физиологии или медицины. После смерти Нобеля в 1896 году потребовалось несколько лет, чтобы воплотить завещание в жизнь, и в 1901 году все было готово к первому присуждению Премии, и впервые были присуждены премии в пяти областях. Сначала только Каролинский институт и его медицинский факультет проводили ежегодные исследования с целью выявить открытие, которое «должно принести наибольшую пользу человечеству» в «области физиологии или медицины», как это было указано в завещании. Однако в настоящее время эта работа проводится Нобелевской Ассамблеей в Каролинском институте. Ассамблея – самостоятельный орган, работающий под руководством Нобелевского Фонда и состоящий из 50 действующих профессоров, работающих в Каролинском институте. Это позволяет поддерживать связь с Каролинским институтом, как указано в завещании. Ассамблея – голосующий орган, в его деятельности ему помогает рабочий орган – Нобелевский Комитет, который выполняет основную часть исследований и представляет результаты Ассамблее для обсуждения. Согласно уставу, заключительное голосование Ассамблеи должно проходить до конца октября. В настоящее время оно обычно проводится в первый понедельник октября. Оно сопровождается пресс-конференцией, на которой объявляют Лауреатов.

Как Ассамблея отбирает кандидатов на присуждение Премии и как принимается решение о Лауреатах? Рабочая схема – тщательная 3-х этапная процедура. Сначала мы (в течение предшествующего награждению года) назначаем номинаторов из разных стран и просим их предлагать подходящие кандидатуры. Таким образом, Ваша кандидатура должна быть указана научным сообществом, чтобы Вы имели право на присуждение Премии. Это значит, что результаты, проведенных Вами исследований, должны быть опубликованы, и должно быть доказано, что они правильные.

Крайний срок номинации – 31 января. Во-вторых, у нас есть почти год, чтобы проверить всех кандидатов. В соответствии с завещанием, мы выявляем наиболее значимые открытия. Отчасти это касается всех трех премий в области науки, но особенно относится к Премии в области Физиологии или Медицины. В завещании говорится только об открытии, сделанном в этой области (что касается физики, то в завещании говорится также об изобретении, а в химии может также быть усовершенствование). Проводится очень тщательная оценка, а ее результаты представляются в письменном виде и хранятся в наших Архивах. Исходя из сделанных выводов, проводится несколько встреч Нобелевской Ассамблеи и Нобелевского Комитета, состоящего из 18 профессоров, выбранных таким образом, чтобы охватывать все наиболее насущные проблемы и на разные периоды времени с тем, чтобы обеспечивать непрерывность и преемственность в работе. Полученные результаты оценки передаются экспертам по данному вопросу, как членам Комитета/Ассамблеи, так и представителям науки, не входящим в их состав. То, что все оценки представляются в письменном виде и являются конфиденциальными, обеспечивает, насколько это возможно, незаинтересованное мнение отдельных специалистов и тщательное проведение исследований всеми участвующими в процессе отбора лицами. Никто из участников процедуры отбора не захочет оставить в нашем Архиве документ, который одобрял бы то или иное открытие, которое в последствии оказалось бы неверным, или, наоборот, отвергнуть то, которое в дальнейшем может оказаться бесценным. Все содержание процесса и все оценки (так же как номинации) являются конфиденциальными и остаются таковыми в наших Архивах в течение долгого периода времени. Однако через 50 лет, когда все, кто участвует в процессе отбора кандидатов, уже не могут пострадать от частного снятия ограничения к доступу к документам, истории и другие лица, изучающие историю науки, могут обратиться с просьбой и получить разрешение работать с некоторыми документами. Ценность Архивов в том, что они отражают действительное развитие науки: каждый год, в документах отражаются все но-

минации, а так же научные оценки в области этих номинаций. Это бесценная информация, показывающая тенденции в развитии науки, и оказывающая большую помощь в ходе исторического исследования.

Наконец, третий этап в процессе присуждения Премии: голосование. Голосующие профессора учитывают все представленные оценки, так же как и обсуждение, проводившееся в течение года. Решение принимается простым большинством голосов, и Лауреат (ы) объявляются в тот же день на пресс-конференции. Непосредственно перед этой конференцией мы пытаемся связаться с Лауреатом (Лауреатами) по телефону, помочь ему подготовиться к скорому приезду журналистов. Церемония награждения проводится в Стокгольме 10 декабря (день смерти Нобеля).

Весь процесс остается практически без изменений, начиная с 1901 года, за исключением непродолжительных перерывов, обусловленных главным образом мировыми войнами, когда отсутствие контактов между странами не позволяло осуществить процесс присуждения Премии. Однако некоторые детали изменились в соответствии с изменениями в шведском законодательстве и развитием средств коммуникации. В комитете была учреждена должность секретаря, число членов Комитета увеличилось, была образована Ассамблея и были обновлены схемы проведения отбора кандидатов. С незначительными изменениями мы присуждали Премии в области физиологии или медицине 99 раз (включая текущий год) и назвали 189 Лауреатов (не включая текущий год). Устав позволяет называть каждый год максимально трех Лауреатов, и Премии могут присуждаться совместно или делиться на две части с четким указанием открытий, сделанных в той области, в которой присуждается Премия.

Отмечаемая в этом году Премия 1908 года, была присуждена совместно Мечникову и Эрлиху с пометкой «в знак признания их работы по теории иммунитета». Несколько первых Нобелевских премий в области физиологии или медицины касались болезней, в

которых большое значение имели иммунологические факторы, побеждающие инфекции, например Премия 1901 года (фон Беринг был награжден за сывороточную терапию), 1902 года (Росс был награжден за открытие механизмов малярии), 1905 года (Кох за исследования туберкулеза), 1907 года (Лаверан за изучение протозойных болезней), но только в 1908 году при присуждении премии Мечникову и Эрлиху впервые упоминалось, что она присуждена за исследования в области иммунитета. Их работа была связана с клеточным иммунитетом (Мечников) и гуморальным иммунитетом (Эрлих). Нобелевские Лекции каждый год издаются Нобелевским Фондом в книге, *Les Prix Nobel*, и их можно найти в интернете по адресу Nobelprize.org.

Наконец, несколько слов о человеке, который стоит за всем этим: об Альфреде Нобеле. Его отец и его братья пытались получить безопасный для использования нитроглицерин. Альфред был первым, кто понял, как это сделать. Он использовал кремнезем из донных отложений океана и получил, таким образом, вещество, динамит, которое не взрывалось спонтанно, как нитроглицерин. Он начал промышленное производство динамита, которое послужило основой создания его богатства. Он много путешествовал по всему миру. У него не было семьи, и поэтому он решил, что после его смерти все его состояние пойдет на создание системы Премий, присуждаемых за открытия, которые могут послужить на благо человечеству. Он намного опережал свое время. Он первым принял решение о присуждении международных премий, что вызвало удивление и непонимание со стороны его апологетов, когда об этом стало известным после его смерти. Теперь, это – часть нашей международной научной жизни. В настоящее время существуют многочисленные премии, но Нобелевские премии – самые престижные. Они двигали науку, культуру и мир на благо человечества в течение столетия, и являются премиями, присуждаемыми за заслуги перед человечеством, как об этом и говорил Нобель.

THE NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE

Hans Jörnvall

Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

Jörnvall Hans The Nobel Prize in Physiology or Medicine // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 20–21.

Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Karolinska Institutet, SE-171 77 Stockholm, Sweden

The Nobel prizes cover five subjects, physics, chemistry, physiology or medicine, literature, and peace, as given in the will of Alfred Nobel. The will, signed in 1895, named Karolinska Institutet as the awarding body for the Prize in Physiology or Medicine. After Nobel's death in 1896, it took several years to execute the intentions of the will, but in 1901 all was ready for the first

Prize occasion, and the five subjects got their first Awardees.

Initially, it was Karolinska Institutet and its Medical Faculty that handled the yearly investigations to find the discovery that «shall have conferred the greatest benefit on mankind», within the «domain of physiology or medicine» as the wording of the will says. However, since long

this whole work is now handled through the Nobel Assembly at Karolinska Institutet. The Assembly is a separate body under the Nobel Foundation, composed of 50 active Professors at Karolinska Institutet, in this manner keeping the Karolinska connection as required by the will. The Assembly is the voting body, and is assisted by a working body, the Nobel Committee, which performs much of the investigations and presents the results to the Assembly for discussions. The final vote by the Assembly should take place before the end of October, according to the statutes, and is now usually carried through on the first Monday of October, directly followed by a press conference announcing the Laureates.

How does the Assembly secure candidates for the Award and arrive at the Awardee decision? The working scheme is a careful 3-step procedure. We first (during the year before) appoint and ask nominators world-wide to nominate suitable candidates. Thus, you must be nominated by the scientific community to be eligible for the Award. This secures that the results have been published and that the discoveries have been proved to be correct in the experience of the international scientific community. Deadline for nomination is Jan 31 each year.

Secondly, we have much of one year to investigate all candidates. As emphasized by the will, we look for true discoveries, causing paradigm shifts. In part this is so for all the three Science Awards, but particularly so for the Prize in Physiology or Medicine, for which only discovery is mentioned in the will (for Physics also invention is mentioned, for chemistry also improvement). The evaluation is very thorough and results in written reviews which after handling are kept in our Archives for the future. Based on these evaluations there are several meetings with the Nobel Assembly and the Nobel Committee. The latter is a smaller body, with 18 professors, selected to cover the hot topics, and appointed for different periods to guarantee both continuity and renewal. Evaluation assignments are given to experts in the subject, both within and outside of the Committee/Assembly. The fact that all evaluations are written and kept confidential secures as far as possible that we get true opinions and well-prepared investigations from all involved. No evaluator wishes to leave for the future a written document in our archives that may favour a discovery that later turns out to be incorrect, or disfavour one that later turns out to be paramount. The entire content of the process and all evaluations (as well as the nominations) are confidential and remain so in our Archives for long. However, after 50 years, when those involved do not suffer any longer from limited disclosure, historians and others studying History of Science may apply for permit to study specific subjects. The Archives are valuable, because they reflect the development and evolution of Science: each year, the documents show all nominations as well as the scientific world's evaluations of exactly those nominations. A wealth of information, showing all trends, and a tremendous help to historic research.

Finally, the third step in the Award process: the voting. The voting professors have all the evaluations in mind, as

well as all the discussions during the year. Decision is by simple majority and the Laureate (s) are announced the same day at a press conference. Just before this conference, we try to reach the Laureate (s) by phone, to help them prepare for the arrival of journalists and interviewers soon to come. The Prize Ceremony is on Dec 10 (Nobel's death date) in Stockholm.

This whole process has been largely the same since 1901, except for short intervals mainly in relation to the world wars when lack of working contacts prevented the Prize process. Details have however changed to adjust to law changes in Sweden, and communication progress. The secretary has been added to the Committee, the Committee members have increased in number, the evaluations have increased, the Assembly has been formed, and internal flow schemes have been updated. But with minor adjustments, we have now awarded the Prize in Physiology or Medicine 99 times (including the present year) and named 189 Laureates (not yet including the present year). The statutes allow for maximally three Laureates each year, and shared Prizes can be given to all jointly, or divided into two parts naming distinct discoveries within the chosen Award field.

The 1908 Prize now celebrated was given jointly to Mechnikov and Ehrlich, with the quotation «in recognition of their work on immunity». Several of the early Nobel Prizes in Physiology or Medicine concerned diseases where immunological factors combating infections are important, for example the Award in 1901 (von Behring for serum therapy), 1902 (Ross for malaria mechanisms), 1905 (Koch for tuberculosis), 1907 (Laveran for protozoan diseases), but it is not until Mechnikov and Ehrlich in 1908 that immunity is directly mentioned in the quotation. Their work concerned cellular immunity (Mechnikov) and binding interactions (Ehrlich). The Nobel Lectures are each year published by the Nobel Foundation in a book, *Les Prix Nobel*, and on the internet at Nobelprize.org.

Finally, a few words about the man behind it all: Alfred Nobel. His father and his brothers were involved in trying to tame nitroglycerin to allow its safe use in the human society. Alfred was the one who discovered how to do, by addition of kieselguhr from the Ocean floors, thus creating a product, dynamite, that did not explode spontaneously, like nitroglycerin does. He started industrial production of dynamite, which created his wealth and took much of his time in constant travels. He never formed a family and decided that after his death his wealth would go to an Award system for international Prizes to the benefit of mankind. He was much before his time, and his concept of an international award was then unheard of, creating both opposition and surprise when it became known after his death. Now, it is part of the international society and awards are plentiful, but the Nobel Prizes are the start and the most prestigious. They have promoted science, culture and peace to the benefit of mankind for a century, and are gifts to recognize progress as given by Alfred Nobel to the world.

ИНФЕКЦИИ И ИММУНИТЕТ. ДОСТИЖЕНИЯ ФАРМАКОТЕРАПИИ INFECTIONS AND IMMUNITY. PHARMACOTHERAPY ACHIEVEMENTS

© Ян Палмблад, 2008
© Jan Palmblad, 2008

GRANULOCYTE FUNCTION – FROM THE DISCOVERY BY MECHNIKOV TO TODAY

Jan Palmblad

Karolinska Institutet, S-141 86 Stockholm, Sweden

Палмблад Ян. Функции гранулоцитов – от открытия Мечникова до наших дней. // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 22–23.
Каролинский институт, S-141 86, Стокгольм, Швеция.

Palmblad Jan Granulocyte function – from the discovery by Mechnikov to today // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 22–23.
Karolinska Institutet, S-141 86 Stockholm, Sweden.

Although amoeboid phagocytosis, i. e. presence of microorganisms and particles in leukocytes, had been described prior to Mechnikov's famous Messina experiment, only he recognized the importance of phagocytosis in a general scheme of inflammation and to develop an experimental model for its investigation. Since then, this field of research has undergone a development that is unrivalled. Few scientific observations have been the subject of a real theatre play, but GB Shaw saw the possibility to contrast Mechnikov's concept of the brave white soldier (i. e. the neutrophil granulocytes and macrophages), defending our bodies, to R. Virchoff's view that these cells also conferred harm to organs. Indeed, this dualistic view, as discussed in the *Doctor's dilemma*, still is relevant for today's concept of these cells. The granulocytes are, on the one hand, necessary for host defence, as exemplified by the fatal course of untreated agranulocytosis, for example Kostmann's disease. On the other hand, they are instrumental for various harmful actions, joint destruction in rheumatoid arthritis and for the lung injury caused by activated aggregating neutrophils in adult respiratory distress syndrome and a variety of sepsis manifestations.

Not only have we learnt how phagocytes are born in the bone marrow, how they migrate into the blood, spend a couple of hours looking around for signals that the body

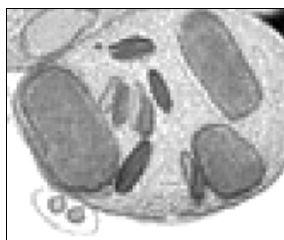


Figure 1. A «microcyte» (i. e. a granulocyte) with phagocytosed bacteria. Original drawing by Mechnikov.

is under attack by bacteria or fungi, and then emigrating to the battle scene in the tissues. We have also explored the details of the deadly weaponry of the cells, for instance the NADPH oxidase, generating the bactericidal reactive oxygen species. The contribution of antimicrobial peptides for host defence is a rather novel contribution, opening up for new concepts for drug development, much needed in a world with fewer new antibiotics in industry's pipelines than ever. Even in the moment of their death, granulocytes release parts of their entrails to ensnare microorganisms in NETs. In addition, dying, apoptotic neutrophils, engulfed by macrophages, will serve as a signal for initiation of resolution of inflammation, thus ending what they started up.

Phagocytosis as a phenomenon has had a deep impact on cell biology. There are a great number of words and concepts related to phagocytosis, e. g. endocytosis, exocytosis, pinocytosis, phagosomes, autophagy, endophagy etc.

From having been regarded as lonely riders, working for our best without co-operating with other systems, phagocytes have now assumed novel roles. So, for instance, they are considered to be antigen-presenting cells, albeit less efficient than dendritic cells if judged per cell, but since granulocytes are so abundant, the total amount of presented antigens is impressive. Neutrophils have been considered to regulate T-cells by means of released argin-

ase, depriving the lymphocytes of an essential nutrient and subsequently making them lame. A recent finding is that neutrophils may be involved in blood pressure regulation by means of co-operation with vascular endothelial nitric oxide synthases.

These and other phenomena, that will be presented, show the robustness, validity, and durability of Mechnikov's visions.

© Ян Палмблад, 2008

© Jan Palmblad, 2008

NEUTROPENIA AND NEUTROPHIL DYSFUNCTION SYNDROMES

Jan Palmblad

Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

Палмблад Ян. Нейтропения и синдром дисфункции нейтрофилов // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 23–27.

Каролинский институт, S-141 86, Стокгольм, Швеция.

Palmblad Jan. Neutropenia and neutrophil dysfunction syndromes // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 23–27.

Karolinska Institutet, S-141 86 Stockholm, Sweden.

S u m m a r y . In chronic neutropenias, the susceptibility to infectious agents is highly variable, but the reason why some patients contract life-threatening infections and other do not, is poorly understood. The efficacy of delivery of neutrophils to the tissues plays a key role. Recently, investigations of severe chronic neutropenias have disclosed mutations that promote apoptosis of neutrophil progenitors. The high risk for myelodysplasia and acute leukemia in these patients requires a strict protocol for follow-up. Idiopathic chronic neutropenias are part of a bone marrow failure syndrome, where immune mechanisms play a significant role. Autoimmune neutropenias exemplifies disorders of interactions between myelopoiesis and the immune system, e. g. relations to immunoglobulin aberrations and the cytokine network. Antibody mediated neutropenias (alloimmune, autoimmune) is one part of the spectrum of these disorder, whereas the other is constituted by T-lymphocyte mediated reactions. If infections occur, apart from antibiotics, G-CSF is the treatment first choice. – Acute neutropenias are most often due to infections or drugs. The idiosyncratic drug reactions are still poorly understood but carry a risk of 5–10% for fatal outcome even today. – The machinery of mature neutrophils can also be defective because of inherited or acquired errors. If a component of the superoxide-generating NADPH oxidase complex is missing because of mutations, chronic granulomatous disease occurs, with increased infection propensity. Similarly, defects of the integrins and other adhesive proteins make neutrophils unable to migrate and leads to tissue infections. – These diseases mirror the significance of Mechnikov's original concept of the neutrophil as a principal brave white soldier in host defence.

NEUTROPENIAS

Definitions. A blood absolute neutrophil count (ANC) of less than 1.500/μl is considered as neutropenia. In mild neutropenia, the ANC is 1.000–1.500/μl, in moderate neutropenia 500–1.000/μl and severe neutropenia (often called agranulocytosis) < 500/μl. This subdivision is useful in predicting the risk in bacterial infection in patients. Chronic neutropenia is defined as being present for more than 3 months [1].

Acute or transient neutropenias are often caused by cytotoxic drugs or due to idiosyncratic drug-induced reactions, or infections.

Severe congenital neutropenia (SCN) is a group of disorders where neutropenia is present from birth. These conditions have lately been the target of intense studies, since a number of mutations, causing the SCN, have been defined, shedding light over the regulation of myelopoiesis [2].

Chronic idiopathic neutropenia is a disorder with isolated neutropenia of unknown origin to which no other

pathology can be associated. Being a diagnosis of exclusion, it is highly dependent on the quantity and quality of the diagnostic procedures. Progress has been made recently in the understanding of this condition, suggesting it to depend on T-lymphocytic reactions [3]. Chronic immune neutropenia is a diagnosis based on the demonstration of antibodies against neutrophils or myeloid progenitors [1] or where other findings strongly point to an immune process that probably (also) includes neutrophils. To this group belongs also the so-called large granular lymphocytic (LGL) associated neutropenias.

Infections. The major risk in neutropenia is infection. The risk is inversely proportional to the ANC but not strictly. This relation is best documented in neutropenias following cytoreductive therapy; SCN and in HIV patients. Some patients with idiopathic or autoimmune severe chronic neutropenia may be surprisingly free of symptoms.

It is not the ANC per se that is the interesting predictor of infections, but the delivery of neutrophils to the tissues,

reflected in the ability to produce pus. Assessments of that delivery, for instance by means of skin windows, mouth washings or markers for neutrophils in serum, is however impractical.

A low proliferation of myeloid precursors and low bone marrow reserves appears to be associated with enhanced infection risks, whereas increased peripheral destruction of neutrophils combined with unperturbed production lowers the risk, even at similar ANC's.

An interesting, albeit yet poorly understood phenomenon is coexisting polymorphism or mutations for other determinants of host defense, e. g. IgG-Fc-receptor polymorphisms and/or complement component deficiencies, immunoglobulin or IgG subclass deficiencies lack of mannose-binding lectin and other pattern recognition systems, as well as age, malnutrition etc. Hence, specific treatment of chronic neutropenias must be based on the clinical presentation as much as on the ANC.

Severe Chronic/Congenital Neutropenia (SCN). SCN comprises a number of disorders (Table 1). Here, I will review the most common form, also known as Kostmann's disease (KD) [4, 5].

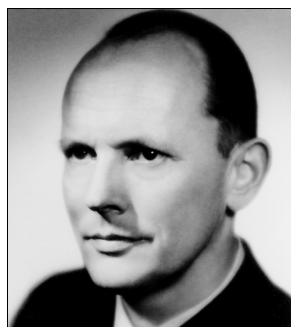


Figure 1. Rolf Kostmann, the Swedish pediatrician who gave the first description of severe congenital neutropenia in 1957.

SCN/KD is characterized by life-long severe neutropenia with ANC < 500/ μ l and often below 200, recurrent, severe bacterial infections and a highly typical arrest of neutrophil maturation at the (pro) myelocyte stage. It estimated to occur in 1–2 cases per million, present as a recessive or dominantly inherited condition or in sporadic cases. Nearly all patients respond to G-CSF therapy with increasing ANC, reduced infection rates and improved quality of life. Over the years, it has become clear that it is associated with a high incidence of MDS and acute leukemia; thus SCN is a pre-leukemic condition.

Table 1. Causes of congenital neutropenias

- Severe congenital neutropenia (Kostmann's disease)
- Cyclic neutropenia (cyclic hematopoiesis)
- Shwachman's syndrome (+exocrine pancreas insufficiency)
- Hyper-IgM-emia (CD40 ligand deficiency), immunoglobulin deficiencies (e. g. IgG3), mannosidosis, branched-chain amino acid metabolism disorders, glycogen storage disease type 1b
- Osteopetrosis, Griscelli and Barth, WHIM syndromes

- Deficiency of neutrophil secondary granules, Chediak-Higashi Wiscott-Aldrich syndromes, C/EBPa deficiency, etc

Molecular pathogenesis and genetics. Mutations in the neutrophil elastase gene (*ELA2*) are found in approximately 60% of all cases, i. e. those with dominant autosomal or sporadic SCN/KD, whereas patients with autosomal recessive disease (the form described by Kostmann) have mutations in the *HAX1* gene. The latter group comprises approximately 20% of all SCN/KD patients. In addition, a handful patients have been described with mutations in other genes (e. g. *GFI-1*, *AP3B1*, *WAS*). Additional mutations are likely to be described. In addition, SCN without a maturation arrest has recently been associated with deficiency of the p14 protein [2].

Although *ELA2* and *HAX-1* mutations occur in quite different genes, the result is the same, i. e. increased neutrophil apoptosis. The mutated *ELA2* gene gives rise to an un/misfolded protein that initiates apoptosis. Without *HAX-1*, an anti-apoptotic protein, apoptosis in myeloid cells is enhanced. Thus, diverse mutations cause premature death of neutrophil precursors during the period of cell maturation when the genes have major expression, which is during the (pro) myelocytic stage.

Lack of granule proteins and LEF-1. An absence of certain granule-related proteins in SCN/KD neutrophils has been described. The first report concerned deficiency of the antibacterial protein pro-LL-37 and low levels of α -defensin in neutrophils of SCN/KD patients. Other groups noted deficiency of several other proteins, including elastase and myeloperoxidase, in *ELA2*- as well as *HAX1*-deficient SCN-patients.

The explanation for the deficiency of certain granule proteins is still unclear. However, recent studies [6] have demonstrated that myeloid progenitor cells from SCN patients have markedly reduced mRNA and protein expression of the transcription factor LEF-1. How LEF-1 deficiency, which not depends on a mutation in its gene, is coupled to the *HAX1* and *ELA2* mutations to mediate SCN is unknown, but points to a common pathway for the pathogenesis of SCN.

MDS/leukemic transformation. The cumulative incidence of MDS/acute myeloid leukemia (AML) is 21% after 10 years of observation of a patient cohort of 374 subjects [7]. This study defined a subgroup of SCN/KD patients, receiving more than the median dose of G-CSF of the whole group of SCN/KD patients, displaying a cumulative incidence of MDS/AML after 10 years of 40% (compared with 11% for patients that were more responsive). This finding can be interpreted as evidence that those with the most severe SCN/KD phenotype, reflected by the higher need for G-CSF, constitute a risk group with a increased leukemogenic potential. Early haematological stem cell transplantation should, hence, be considered in the less-responsive SCN patients.

Other risk markers for MDS/AML transformation have been identified, particularly the role of acquired G-CSF receptor (CSF3R) mutations. Although acquisition of

a CSF3R mutation is an early event in leukemogenesis, this has to be accompanied by not yet identified cooperating molecular events to result in MDS/AML. Moreover, these findings support the hypothesis that mutations of CSF3R may provide the «activated tyrosine kinase signal» that is thought to be important for leukemogenesis [8].

Chronic idiopathic neutropenias. These are probably most frequent in adults, characterized by neutrophil counts in the interval 500–1.500 PMN/ μ L. The most common form is the *benign ethnic neutropenia*, observed in a variety of populations, e. g. Africans, West Indians, Yemenite and Ethiopian Jews, black Beduin Arabs and Jordanians. The etiology is probably related to genetic factors. The problem with ethnic neutropenia is not infections, but that physicians become concerned about the infection risk when cytotoxic chemotherapy is needed for cancers. Lower doses are given and intervals between cycles of chemotherapy are prolonged, resulting in less efficient anti-cancer therapy.

The understanding of mechanisms for *non-ethnic idiopathic neutropenias* has improved dramatically during the last years [1]. This condition may persist for years, even throughout life and are very rarely complicated by lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, or any other systemic diseases. The condition (s) appears to be stable over time, not evolving into myelodysplastic syndromes, acute leukemias, or aplasia. When needed because of infections, G-CSF administration will increase neutrophils in most patients.

The prevalence in Caucasians in general is largely unknown. However, in a Greek population it has been estimated to 1.67%, primarily affecting middle-aged women and with a preponderance for the tissue antigens HLA-DRB1*1302. An inflammatory bone marrow milieu has been shown to be a major contributor to the pathophysiology of this condition. Activated T-lymphocytes with myelosuppressive properties and pro-apoptotic mediators, such as interferon-gamma, tumour necrosis factor-alpha, Fas-ligand and transforming growth factor beta-1 result in accelerated apoptosis of granulocytic progenitor cells. Decreased levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 further disturb the balance between survival and pro-apoptotic mediators.

Immune-mediated neutropenias. Immune neutropenia can be classified on pathogenetic grounds (Table 2). The primary autoimmune neutropenias (AINP) are more prevalent in children, whereas secondary AINP (i. e. due to some other underlying autoimmune disorder that also affects neutrophil turnover) dominates in adults. The diagnosis of antibody-dependent AINP is based on the demonstration of antibodies against neutrophils or myeloid progenitors. The most involved antigens belong to the HNA-1 system, variants of the Fc γ -linked neutrophil Fc γ -receptor III (Fc γ RIIIb). A number of cases display also other types of immunodeficiency syndromes, e. g. immunoglobulin deficiencies, common variable immunodeficiency etc. A growing body of evidence implicates also T-lymphocyte or NK-cell reactions as causes for AINP. The

prototype is the large granular lymphocyte (LGL) syndrome.

Infections may be absent, but may in children occur during first few days of life. They are often only mild and rarely severe.

Table 2. Classification of immune-mediated neutropenias

Alloantibodies

Neutrophil specific alloantibodies: Neonatal alloimmune neutropenia

Autoantibodies

Neutrophil specific autoantibodies

— Primary autoimmune neutropenia

— Secondary autoimmune neutropenia (e. g. in association with SLE, RA, organ-specific autoimmune diseases such as scleroderma, Sjögren's syndrome and primary biliary cirrhosis, in malignant lymphoproliferative diseases, in dys- and hypogammaglobulinemias, in infections such as mononucleosis (EBV), Castleman's disease (HHV8), HIV-infection, Erlichiosis, H. pylori, Leishmaniasis and in drug-mediated neutropenias)

Circulating immune complexes: SLE, RA (Felty's syndrome)

T $\&$ NK-cell mediated reactions

Large granular lymphocytosis (LGL) /neutropenia: Idiopathic, RA, clonal (possibly leukemic)

Autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS; Canale-Smith syndrome)

Large granular lymphocyte (LGL) syndromes. They represent still rather poorly understood conditions. Common to all is an expansion of either T-lymphocytes or NK-cells, with concomitant suppression of granulocytopoiesis and eventually myelopoiesis. There is a debate on whether these conditions are autoimmune, similar to an autoimmune lymphoproliferative disorder, or malignant, i. e. a lymphoma/leukemia.

The clinical course is highly heterogeneous, varying from spontaneous regression to progressive, fatal disease. In 40% of the cases LGL coexists with another disease, e. g. rheumatoid arthritis (Felty's syndrome is a prototype), nephrosis, aplastic anaemia, pure red cell aplasia.

Recently, some understanding of mechanisms has been achieved. LGL cells are resistant to the normal apoptosis of cytotoxic lymphocytes, i. e. via Fas/Fas-ligand pathway, despite expressing high levels of Fas and Fas-ligand. The reason was found in a dysregulation of STAT3 and inhibition of this protein restored LGL cell apoptosis to the Fas-system. Proteases may be overexpressed and protease inhibitors down-regulated. However, it is still unclear how the cytotoxic lymphocytes confer neutropenia.

Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome (ALPS). ALPS is a rare childhood disorder characterized by lymphadenopathy, splenomegaly and autoimmunity. The autoimmune diseases include autoimmune neutropenia, hemolytic anemia, and thrombocytopenia (Evans's syndrome). Patients with ALPS have increased numbers of circulating double-negative T cells (> 20 percent) and

profoundly impaired apoptosis of activated T cells incubated with an anti-Fas antibody. It is caused by Fas mutations (all heterozygous), which impair signal transduction by Fas. Autoimmune manifestations of the disease persist into adolescence. Neoplasms (malignant lymphoma, hepatocellular carcinoma) may develop in adulthood.

Treatment of adult autoimmune neutropenia. An important motto in the treatment of adult AIN is «Do not treat a neutrophil count but a patient!» Prophylactic antibiotics and G-CSF are used for most pediatric cases.

A number of LGL patients have been reported with severe neutropenia in whom only transient responses occurred with corticosteroids and G-CSF, and who may respond to antilymphocyte globulin azathioprine, or cyclosporin.

Infections and idiosyncratic reactions. Acute, often transient, neutropenias may be due to infections or idiosyncratic drug-induced reaction. Sometimes the causative agent or drug is identified, but more often, it remains unknown. This review will not discuss the expected neutropenias following radiation or chemotherapy regimens.

Infections. Many infectious agents can cause a transient neutropenia. The HIV infection as well as its treatment is associated with neutropenia that may limit delivery of therapy. This neutropenia responds to G-CSF, often in lower doses than required SCN.

Apart from acute viral infections, e. g. influenza, measles, rubella, hepatitis, some bacterial might also confer acute neutropenia. In severe sepsis, particularly in alcoholics, neutropenia is a sign of poor prognosis. It is possible that ethanol per se has myelotoxic effects and impairs the ability to generate G-CSF. G-CSF treatment might be of value for those patients.

Human granulocytic Erlichiosis is a recently identified cause for transient neutropenia (and thrombocytopenia). Likewise, leishmaniosis should be suspected in those with neutropenia, thrombocytopenia, and splenomegaly, having traveled in endemic regions.

Table 3. How I treat idiosyncratic drug-induced neutropenias

A. Stop the incriminated drug, obtain microbiology cultures, start antibiotics etc!

B. Alternatives for treating the neutropenia:

- Wait and see – yes, especially for the patient with a good supply of myeloid progenitors in the bone marrow
- Myeloid growth factors (G-CSF, GM-CSF) – maybe, clearly indicated in anti-HIV-drug induced neutropenias; antibiotics for osteomyelitis, endocarditis; interferon treatment of hepatitis, transplants, clozapine in schizophrenics. For poor prognosis patients
- Steroids – no!
- Intravenous immunoglobulin -? Probably obsolete.
- Lithium carbonate – maybe for children with clozapine induced neutropenia.

Drugs. By tradition, idiosyncratic drug-induced neutropenias have been defined as toxic or immune/allergic

reactions, although we have only a poor understanding of which mechanisms is of significance for a certain drug. Some well-characterized mechanisms have been described, e. g. anti-neutrophil antibodies related to aminopyrine, cytotoxic T-cells, haptens, autoimmune reactions, polymorphism for drug metabolizing enzymes or for cytokine and HLA systems, oxidative and other modifications of drugs. Some drugs, e. g. penicillin and antithyroids, may cause agranulocytosis by means of several mechanisms. J Uetrecht et al revealed the mechanisms for clozapine induced neutropenia. This is probably a multi-step event, where the patient's genetic code, e. g. polymorphisms in the TNF- and HLA systems, is a prerequisite, and a subsequent activation of pro-inflammatory cytokines leads to generation of superoxide ions and hydrogen peroxide, necessary for the metabolism of clozapine to the reactive nitrenium ion in neutrophils. This ion causes glutathione and ATP depletion, a process that promotes neutrophil apoptosis.

Treatment is often given with G-CSF, although no evidence-based medicine data support this approach. See Table 3.

The practical approach. Table 4 describes how I work up a case of neutropenia.

Table 4. The diagnostic work up for neutropenias in the adult patient

- Drug history (stop all drugs if possible), dietary habits (vegan, B12 deficiency)
- Complete blood counts, liver tests (hepatitis?), S-electrophoresis (immunoglobulin abnormalities)
- B12, folate, methyl malonate
- BM aspiration (hematological disorder? maturation arrest?) + flow cytometry (CD3, 8, 16, 56, 57, i e LGL-syndrome)
- Autoantibodies (antinuclear antibodies, rheumatoid factor, mitochondria, Sjögren's syndrome)
- Serology for HIV, EB, CMV, hepatitis, parvo B19
- Antibodies to neutrophil surface antigens
- IgG subclasses (IgG3 deficiency?)
- Abdominal imaging (splenomegaly? lymphomas?)

Neutrophil dysfunction syndromes

The machinery of mature neutrophils can be defective because of inherited or acquired errors.

If a component of the superoxide-generating NADPH oxidase complex is missing, because of mutations, chronic granulomatous disease (CGD) occurs, with increased infection propensity. This disorder can be inherited in an X-bound or autosomal form. The NADPH oxidase is a complex arrangement of approx. 10 proteins that reside in the cell membrane or the cytosol of quiescent neutrophil. Upon stimulation, all components assemble at the cell membrane and are able to convert oxygen to superoxide ions. These, in turn, can be converted to hydrogen peroxide and various other reactive oxygen species. In CGD, the assembly of components cannot occur because one component might be completely missing or is changed so that it no longer fits into the docking place of one of the other

proteins. Persisting, severe bacterial and fungal infections lead, if not promptly treated, to granulomas that might be bulky and obstruct airways, gastrointestinal and urinary tract passages. The treatment consists of prophylactic antibiotics, intensive infection treatment with antibiotics that penetrate into the neutrophils and macrophages (since bacteria may survive intracellularly because of the absence of microbicidal oxygen species). Interferon-gamma and hematological stem cell transplantation are used for the severe phenotypes.

Similarly, defects of the adhesive molecules (primarily integrins and their receptors) make neutrophils unable to adhere to the endothelial cells of the postcapillary venules (the prime site for emigration from the blood to the tissues). The result is an inability to reach the tissues where microorganisms multiply, causing tissue infections.

Conclusions. The various neutropenias and neutrophil dysfunction syndromes represent a spectrum of disorders with regard to pathogenesis. Some are rapidly fatal if not treated appropriately and immediately, some are running a very benign course. A few are transient and others are chronic.

These diseases mirror the significance of Mechnikov's concept of the neutrophil as a principal brave white soldier in host defense, our home guards of the tissues.

References

1. Palmblad J, von dem Borne A E G Kr. Idiopathic, immune, infectious, and idiosyncratic neutropenias. *Semin Hematol* 2002; 39: 113–20
2. Boztug K, Welte K, Zeidler C, Klein C. Congenital neutropenia syndromes. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2008; 28: 259–75
3. Palmblad J, Papadaki HA. Chronic idiopathic neutropenias and severe congenital neutropenia. *Curr Opin Hematol.* 2008; 15: 8–14.
4. Carlsson G, Andersson M, Pütsep K, et al. Kostmann syndrome or infantile genetic agranulocytosis, part one: celebrating 50 years of clinical and basic research on severe congenital neutropenia. *Acta Paediatr* 2006; 95: 1526–32.
5. Carlsson G, Melin M, Dahl N, et al. Kostmann syndrome or infantile genetic agranulocytosis, part two: Understanding the underlying genetic defects in severe congenital neutropenia. *Acta Paediatr* 2007; 96: 813–9
6. Skokowa J, Cario G, Uenal M, et al. LEF-1 is crucial for neutrophil granulocytopoiesis and its expression is severely reduced in congenital neutropenia. *Nat Med* 2006; 12: 1191–1197
7. Rosenberg PS, Alter BP, Bolyard AA, et al. The incidence of leukemia and mortality from sepsis in patients with severe congenital neutropenia receiving long-term G-CSF therapy. *Blood* 2006; 107: 4628–35
8. Germeshausen M, Ballmaier M, Welte K. Incidence of CSF3R mutations in severe congenital neutropenia and relevance for leukemogenesis: Results of a long-term survey. *Blood* 2007; 109: 93–9

© С.Л. Мукомолов, О.В. Калинина, И.В. Ликий, М.В. Сталевская, 2008
© S. Mukomolov, O. Kalinina, I. Likiy, M. Stalevskaya, 2008

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ В И С

С.Л. Мукомолов, О.В. Калинина, И.В. Ликий, М.В. Сталевская

Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера
Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия

Мукомолов С.Л., Калинина О.В., Ликий И.В., Сталевская М.В. Молекулярно-биологическая характеристика возбудителей вирусных гепатитов В и С // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 27–30.

Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, 197101 Санкт-Петербург, Российская Федерация, тел. +78122332092, факс +78122329217, эл. почта s.mukomolov@mail.ru

Резюме. В обзоре обобщены материалы собственных исследований авторов, посвященных изучению молекулярно-биологических характеристик возбудителей вирусных гепатитов В и С (HBV, HCV), а также представлена информация по этому вопросу, опубликованная в различных источниках. Особое внимание уделено естественным рекомбинантным формам вируса гепатита С и особенно первому рекомбинанту HCV RF1_2k/1b, обнаруженному в Санкт-Петербурге. Показана высокая жизнеспособность этого генетического варианта вируса и его достаточно широкое распространение в мире. Поставлен вопрос о необходимости более детальных исследований схем лечения интерферонами больных, инфицированных рекомбинантными формами HCV.

Ключевые слова: вирус гепатита В (HBV), вирус гепатита С (HCV), генотипирование, молекулярная эпидемиология

Mukomolov S., Kalinina O., Likiy I., Stalevskaya M. Molecular-biological characteristics of viral hepatitis B and C agents. // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 27–30.

Saint-Petersburg Pasteur Institute, 14, Mira street, 197101 Saint-Petersburg, Russia, phone +78122332092, fax +78122329217, e-mail s.mukomolov@hotmail.com

Summary. The results of own studies concerning molecular biological characteristics of viral hepatitis B and C agents (HBV, HCV) as well as information obtained from different publications are summarized in the current review. The special attention is paid to natural recombinant forms of HCV and especially to the first recombinant HCV RF1_2k/1b discovered in Saint-Petersburg.

The data are presented that this genetic variant of HCV is highly жизнеспособен and widely distributed in the world. One of the main problem is necessity to conduct more deep studies of interferon treatment of patients infected by recombinant forms of HCV.

К е у в о р д с . hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), genotyping, molecular epidemiology

В последнее десятилетие, благодаря развитию молекулярно-биологических методов исследований и их применению в вирусологии, убедительно показана гетерогенность популяций возбудителей вирусных гепатитов (ВВГ), обусловленная значительной генетической вариабельностью, которая легла в основу современной классификации изолятов. Основываясь на проценте гомологии между нуклеотидными последовательностями геномов, вирусы гепатитов внутри родов подразделяют на генотипы, субтипы, изоляты и квазивиды в зависимости от особенностей каждого возбудителя.

Молекулярная характеристика вируса гепатита В

О гетерогенности популяции вируса гепатита В (HBV) стало известно еще в середине 70-х годов прошлого столетия, когда экспериментально серологическими методами было показано существование субтипов поверхностного антигена вируса – HBsAg. При этом была обнаружена одна общая детерминанта «а», которая в комбинации с 2 дополнительными детерминантами d/y и w/g образовывала 4 субтипа HBsAg: adw, ayw, adr, ayr. Позднее были описаны новые варианты детерминант, а общее количество субтипов достигло 9. На основе анализа нуклеотидных последовательностей S гена, изоляты HBV, выделенные в различных регионах мира, объединили в 8 основных генотипов, которые обозначили заглавными буквами латинского алфавита: A, B, C, D, E, F, G и H [14, 15, 17, 2]. Совсем недавно, в 2008 году во Вьетнаме описан совершенно новый генетический вариант вируса ГВ, который предлагается именовать генотип I по соответствующей букве латинского алфавита [6]. Внутри генотипов различают субгенотипы, которые обозначаются добавлением арабских цифр к букве латинского алфавита (A1, A2, A3..)

Следует отметить, что полного соответствия между генотипами HBV и серотипами HBsAg не установлено. Так, изоляты HBV, относящиеся к четырем совершенно разным генотипам A, B, C и F, могут иметь один и тот же серотип adw2.

К настоящему времени накоплен обширный банк нуклеотидных последовательностей геномов изолятов HBV, который постоянно пополняется новыми вариантами вируса. Обнаружено, что различные генотипы HBV циркулируют на определенных, достаточно крупных, географических пространствах. Генотип A превалирует в Северной Европе, США и Южной Африке. Генотипы B и C, в основном, циркулируют в Юго-Восточной Азии. Генотип D является наиболее распространенным, обнаруживаемым практически повсеместно, но с большей частотой в странах Средиземного моря, Ближнего Востока и Индии. Этот генотип также был обнаружен у населения Азии от Индонезии и Новой Гвинеи до Аляски. Генотип G

встречается в США и Франции. Генотип E обнаружен лишь в странах Западной Африки, а генотип F – практически только в Южной и Центральной Америке. В этом же регионе недавно описан новый генотип H [2]. Как и генотипы, субгенотипы вируса ГВ циркулируют на определенных географических территориях. Так, субгенотип A1 доминирует в Юго-Восточной Азии и на африканском континенте, южнее Сахары. Субтип A2 встречается, в основном, в странах Европы и Северной Америки, а субтип A3 был обнаружен у населения Западной и Центральной Африки.

В Санкт-Петербургском Институте им. Пастера в течение ряда лет проводится изучение генотипов HBV методами PCR-RFLP и секвенирования ограниченных участков генома вируса. Использование этих методов позволило установить, что в Санкт-Петербурге доминирует генотип D HBV (более 95%). Дополнительно к генотипу D в городе были обнаружены изоляты HBV, принадлежащие к генотипам A (7,6%) и C (1,7%). Изоляты HBV генотипа C выявлены только среди выходцев из Юго-Восточной Азии, приехавших в Санкт-Петербург относительно недавно. Учитывая, что генотип C является доминирующим в Юго-Восточной Азии, можно сделать заключение о выявлении возможного пути проникновения данного генотипа в популяцию города через выходцев из Юго-Восточной Азии. На основе филогенетического анализа удалось выявить значительную гетерогенность Санкт-Петербургских изолятов HBV генотипа D, выделенных от больных как острым, так и хроническим ГВ.

Аналогичные данные были получены при изучении изолятов HBV, циркулирующих в г. Самара. На основе филогенетического анализа было доказано доминирование генотипа D, а также выявлены случаи инфицирования пациентов изолятами HBV генотипа A [5].

Недавно опубликована статья Т. Tallo et al. [18] с результатами филогенетического анализа полноразмерных геномов 46 изолятов HBV, выделенных в Эстонии, Сибири и Дальнем Востоке России, а также в Средней Азии. Результаты этого исследования убедительно продемонстрировали, что в Северной Евразии доминирует субгенотип HBV D2 субтипа ayw3. Субгенотип D1 HBV наиболее часто обнаруживается на Среднем Востоке и в Центральной Азии, а субгенотип HBV D3 субтипа ayw2 – в Италии и Сербии.

Молекулярная характеристика вируса гепатита С

Вирус гепатита С (HCV) характеризуется самой высокой генетической вариабельностью генома среди ВВГ. Согласно наиболее употребляемой классификации, все изоляты HCV группируются в 6 главных генотипов, обозначаемых арабскими цифрами от 1 до 6. Внутри каждого генотипа выделяют субтипы, которые включают изоляты, состоящие из квазивидов. На принадлежность изолята к определенному субтипу

указывают прописные латинские буквы, которые пишутся вслед за арабской цифрой: HCV1a, HCV1b, HCV1c, HCV2a и т. д. В настоящее время известно более 100 субтипов HCV.

Современное глобальное географическое распространение различных генотипов HCV, как и в случае HBV, достаточно хорошо документировано. Некоторые генотипы встречаются по всему миру, тогда как другие циркулируют в определенных географических зонах. Генотипы 1, 2 и 3 получили наибольшее распространение, при этом тот или иной их субтип доминирует в разных географических зонах. Генотипы 4, 5 и 6 имеют более локальное распространение. Генотип 4 – основной тип HCV в Центральной и Северной Африке, в Заире и на Среднем Востоке. Генотип 5 выявлен исключительно в Южной Африке, и это единственный генотип, который включает лишь один субтип 5a. Генотип 6 широко представлен в странах Юго-Восточной Азии.

Изучение распространенности генотипов HCV, проведенное в Санкт-Петербурге в конце 90-х годов прошлого столетия, позволило установить циркуляцию 6 субтипов вируса в городе: 1a, 1b, 2a, 2c, 3a, 4a [1, 8]. В то время в основной популяции Санкт-Петербурга доминировал субтип HCV 3a (50%) независимо от ведущего пути инфицирования больных. Субтип HCV 1b занимал лишь второе место (39%). Остальные субтипы вируса обнаруживались значительно реже. Необходимо отметить, что во время проведения этого исследования в Санкт-Петербурге наблюдалась самая высокая заболеваемость острым ГС, достигавшая 91 на 100000. Эпидемиологические сопоставления показывали, что такая ситуация была связана с интенсивным распространением вируса в среде лиц, употребляющих психотропные вещества внутривенно. Было установлено, что большинство таких лиц инфицировано HCV 3a (55%), а у молодых людей до 20 лет этот генотип вируса обнаруживался даже в 67%.

Другое распределение субтипов HCV было выявлено при обследовании пациентов отделений хронического гемодиализа (ОХГД). В этой группе пациентов преобладал генотип HCV 1b (89%), а генотип HCV 3a встречался лишь в 7% случаев. Филогенетический анализ изолятов HCV 1b, выделенных от пациентов ОХГД, показал, что они группировались по отдельным отделениям. При этом длительность лечения HCV –позитивных пациентов в отделениях варьировала в широких пределах – от нескольких месяцев до нескольких лет. Это послужило основанием для утверждения о возможности длительной циркуляции определенных штаммов HCV внутри отделений и, практически, формирования госпитальных штаммов возбудителя.

Изучение циркулирующих генотипов HCV в Санкт-Петербурге в 2007 году показало, что доминирование субгенотипа HCV 3a в циркуляции продолжалось. Этот генетический вариант вируса обнаруживался в 49,4%. Второе ранговое место занимал субгенотип HCV 1b (41,4%). У пациентов также выявля-

лись генотип HCV 2 (7,2%) и субгенотип HCV 1a (0,4%). Последний вариант наиболее распространен на американском континенте и выявлялся у лиц, приехавших из США. Важно подчеркнуть, что у 4 пациентов (1,6%) было установлено инфицирование сразу двумя субгенотипами HCV1b и HCV3a.

До начала XXI века считалось, что эволюция вируса ГС связана только с накоплением мутаций в геноме, поскольку спонтанная рекомбинация между отдельными штаммами, принадлежащими к разным генотипам/субгенотипам не была установлена. В 2002 году появилась первая публикация [9], в которой был описан естественный междугенотиповой рекомбинант вируса ГС, выделенный от пациентов в Санкт-Петербурге, Россия. Поскольку структурный регион генома рекомбинантного вируса принадлежал субгенотипу 2k, а большая часть неструктурного региона – субгенотипу 1b, этот штамм вируса ГС было предложено именовать RF1_2k/1b (RF1 – Recombinant Form 1). Позднее были описаны и другие рекомбинанты. В частности, специалисты из Института Пастера в Хошимине (Вьетнам) обнаружили рекомбинантный штамм вируса ГС, в котором структурный регион был представлен субгенотипом 2i, а неструктурный – субгенотипом 6p [13]. В том же 2006 году появилось сообщение о выделении естественного рекомбинанта вируса ГС 2b/1b на Филиппинах [7], а в 2007 году французские исследователи [11] охарактеризовали рекомбинант вируса ГС 2k/5, выделенный во Франции. Все 4 рекомбинантных вируса, перечисленных выше, являются междугенотиповыми. Вместе с тем имеются сведения и о внутригенотиповом рекомбинанте вируса ГС 1a/1b, который был выделен в Перу [3]. Важно отметить, что во всех случаях междугенотиповых рекомбинантов вируса ГС структурная часть генома была представлена генотипом 2, а точка рекомбинации находилась в области NS2/NS3. По-видимому, этот участок генома является наиболее подходящим для рекомбинации.

Важным моментом для принятия решения о клинко-эпидемиологической значимости рекомбинантного вируса является изучение его распространенности. Еще в 2002 году [9] было продемонстрировано, что рекомбинант RF1_2k/1b встречался в Санкт-Петербурге с частотой 7%. Для прояснения вопроса о циркуляции этого вируса за пределами Санкт-Петербурга были обследованы больные хроническим гепатитом С в Москве, Эстонии и Швеции. Регионы core и NS5B были просеквенированы у изолятов вируса ГС, полученных от 63 больных из Москвы, 67 пациентов из Эстонии и 98 пациентов из Швеции. Все пациенты не были связаны между собой эпидемиологически, за исключением одной супружеской пары из Москвы. Тщательный филогенетический анализ выделенных изолятов по двум регионам генома вируса ГС позволил выявить 2 изолята рекомбинанта RF1_2k/1b в Москве и по одному изоляту в Швеции и Эстонии. Важно подчеркнуть, что оба изолята рекомбинанта в Москве были получены от одной супружеской пары.

При сопоставлении эпидемиологических данных было установлено, что супруг страдал хроническим ГС, а супруга переносила острый ГС во время взятия материала для исследования. Супруги были женаты около 1 года. Таким образом, не исключено, что женщина заразилась рекомбинантным вирусом от своего мужа половым путем.

Рекомбинантный вирус RF1_2k/1b, обнаруженный в Швеции, был выделен от мужчины, который прибыл в страну из Грузии в 2000 г. Подобный вирус из Эстонии был выделен от пациента с множественными гемотрансфузиями и оперативными вмешательствами в анамнезе в 1993 году.

Этот же рекомбинант был обнаружен в последнее время и несколькими независимыми исследователями. Так, I. Moreau et al. [12] сообщили об обнаружении рекомбинанта RF1_2k/1b у двух пациентов в Ирландии. Важно отметить, что оба пациента оказались выходцами из России и Грузии, но в момент обследования были гражданами Ирландии. Изолят рекомбинанта RF1_2k/1b был выделен от анти-HCV положительного пациента в Узбекистане, который злоупотреблял внутривенным использованием психоактивных препаратов [10].

Таким образом, выявление рекомбинанта RF1_2k/1b в различных странах свидетельствует о его жизнеспособности и возможности широкого распространения различными путями (медицинские и немедицинские парентеральные вмешательства, половая передача). Поскольку практически все выявленные пациенты, инфицированные RF1_2k/1b, являются выходцами из России или Грузии, можно предполагать, что формирование этого рекомбинанта произошло на территории либо Грузии, либо в России и, возможно, в Санкт-Петербурге. Именно в этом городе было обнаружено самое большое число лиц, инфицированных RF1_2k/1b. Открытым остается вопрос о лечении больных хроническим гепатитом С, обусловленным RF1_2k/1b. В связи с тем, что часть рекомбинанта представлена генотипом 1b предполагается использовать длительный курс лечения пегелированным интерфероном до 48 недель [12]. Однако это предложение еще требует обоснований.

Список литературы

1. Калинина О.В., Мукомолов С.Л. Молекулярная эпидемиология гепатита С // Вирусные гепатиты. – 2000. – N 3. – С. 9–15.
2. Arauz-Ruiz P., Norder H., Robertson B., Magnus L. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America // J. Gen. Virol. – 2002. – Vol. 83. – P. 2059–2073.
3. Colina R., D. Casane, S. Vasquez, L. Garcia-Aguerre et al. Evidence of intratypic recombination in natural populations of hepatitis C virus // J. Gen. Virol. – 2004. – Vol. 85. – P. 31–37.
4. Cristina J., Mukomolov S., Colina R., Kalinina O. et al. Hepatitis C virus phylogeny: a useful clinical tool // Acta Virol. – 2002. – Vol. 46. – P. 179–182.
5. Flodgren E., Bengtsson S., Knutsson M., Strebkova E., Kidd et al. Recent high incidence of fulminant hepatitis in Samara, Russia: molecular analysis of prevailing hepatitis B and D virus strains // J. Clin. Microb. – 2000. – Vol. 38. – P. 3311–3316.
6. Huy T.T., Ngoc T.T., Abe K. New genotype of hepatitis B virus identified in Vietnam that showed complex recombinant // J. Virol. – 2008. – Vol. 3. – P. 176–178.
7. Kageyama S., D.M. Agdamag, E.T. Alesna, P.S. Leano et al. A natural inter-genotypic (2b/1b) recombinant of hepatitis C virus in the Philippines // J. Med. Virol. – 2006. – Vol. 78. – P. 1423–1428.
8. Kalinina O., Norder H., Vetrov T., Zhdanov K. et al. Shift in predominating subtype of HCV from 1b to 3a in St. Petersburg mediated by increase in injecting drug use // J. Med. Virol. – 2001. – Vol. 65. – P. 517–524.
9. Kalinina O., Norder H., Mukomolov S., Magnus L. A natural intergenotypic recombinant of Hepatitis C virus identified in St. Petersburg // J. Virol. – 2002. – Vol. 76. – P. 4034–4043.
10. Kurbanov F., Tanaka Y., Avazova D., Khan A. et al. Detection of hepatitis C virus natural recombinant RF1_2k/1b strain among intravenous drug users in Uzbekistan // Hepatol. Res. – 2008. – Vol. 38 (5). – P. 457–464.
11. Legrand-Abravanel F., J. Claudinon, F. Nicot, M. Dubois et al. New natural intergenotypic (2/5) recombinant of Hepatitis C virus // J. Virol. – 2007. – Vol. 81. – N 8. – P. 4357–4362.
12. Moreau I., S. Hegarty, Levis J., Sheehy P. et al. Serendipitous identification of natural intergenotypic recombinants of hepatitis C in Ireland // Virology Journal. – 2006. – Vol. 3. – P. 95–98.
13. Noppornpanth S., T.X. Lien, Y. Poovorawan, S.L. Smits et al. Identification of a naturally occurring recombinant genotype 2/6 hepatitis C virus // J. Virol. – 2006. – Vol. 80. – P. 7569–7577.
14. Norder H., Courouze A.M., Coursaget P., Echevarria J.M. et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes and HBsAg subtypes // Intervirology. – 2004. – Vol. 47. – P. 289–309.
15. Okamoto H., Tsuda F., Sakugawa H., Sastrosoewignjo R.I. et al. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes // J. Gen. Virol. – 1988. – Vol. 69. – P. 2575–2583.
16. Sakamoto T., Tanaka Y., Orito E., Co J. et al. Novel subtypes (subgenotypes) of hepatitis B virus genotypes B and C among chronic liver disease patients in Philippines // J. Gen. Virol. – 2006. – Vol. 87. – P. 1873–1882.
17. Stuyver L., De Gendt S., Van Geyt C., Zoulim F. et al. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness // J. Gen. Virol. – 2000. – Vol. 81. – P. 67–74.
18. Tallo T., Tefanova V., Priimagi L., Schmidt J. et al. D2: Major subgenotype of Hepatitis B virus in Russia and the Baltic region // J. Gen. Virol. – 2008. – Vol. 89. – P. 1829–1839.

© А.К. Иванов, В.В. Нечаев, Тоан Ле, И.В. Жужгова, А.М. Пантелеев, Н.А. Турсунова, 2008
© A.K. Ivanov, V. Nechaev, Toan Le, I. Gugova, A. Pantelev, N. Tursunova, 2008

СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ СОЧЕТАННЫМИ СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

А.К. Иванов, В.В. Нечаев, Тоан Ле, И.В. Жужгова, А.М. Пантелеев, Н.А. Турсунова
Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия

Иванов А.К., Нечаев В.В., Ле Тоан, Жужгова И.В., Пантелеев А.М., Турсунова Н.А. Состояние иммунной системы у больных сочетанными социально-значимыми инфекциями // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 31–33.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации», Россия, 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47 Тел. (812) 543-96-09, факс: (812) 140-15-24 Эл. почта: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

Р е з ю м е . Изучен иммунологический статус у 453 больных тройственной (ТБ+ВИЧ+ВГ), 48 больных ко-инфекцией (ТБ+ВИЧ) и 304 пациентов ВИЧ в сочетании с ВГ. Комбинированное противотуберкулезное лечение дало позитивные результаты, о чем свидетельствует увеличение числа CD4-Т-лимфоцитов. Уровень иммунитета у больных тройственной инфекцией оказался ниже, чем у больных ко-инфекциями. В структуре ВГ у больных ТБ+ВИЧ в динамике за 5 лет наблюдалось увеличение доли ВГС с 42,8 до 51,2% при сохранении удельного веса больных ВГВ+ВГС на уровне 46%.

К л ю ч е в ы е с л о в а . Туберкулез, ВИЧ-инфекция и вирусные гепатиты. Иммунная система.

Ivanov A.K., Nechaev V.V., Le Toan, Zhuzhova I.V., Pantelev A.M., Tursunova N.A. Immune system state in patients with combined socially-significant infections // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 31–33.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», Russia, 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru.

S u m m a r y . Immunology status of 453 patients 3- infections (TB+HIV+YV) and co - infected with TB+HIV (48) and HIV+HV (304). Combined antituberculosis treatment was observed to have positive result, this group received increase number CD4. All patients with 3-infected and HIV+HV have had improve number HCV with 42.8% to 51.2%, the level HCV+HBV have save about 46%.

K e y w o r d s . Tuberculosis, HIV-infection and Viral Hepatitis. Immune system.

Сочетанные социально-значимые инфекции (ССЗИ) представляют серьезную угрозу здоровью населения многих стран мира вследствие их активизации и широкого распространения [4]. Интервенция западного образа жизни в молодежную среду России, криминализация общества, сексуальная революция и распространение эпидемии наркомании, снижение уровня жизни привели к активизации эпидемического процесса ВИЧ-инфекции, вирусных гепатитов [2], а также туберкулеза [3, 5, 6].

К социально-значимым заболеваниям относятся туберкулез, ВИЧ-инфекция и вирусные гепатиты. Их объединяют патогенетические, эпидемиологические связи и социальные условия, в которых они развиваются. На фоне ВИЧ-инфекции, сопровождающейся «поломкой» иммунной системы, развивается туберкулез, течение которого становится прогрессирующим. Введение наркотиков создает предпосылки для возникновения бактериальных и вирусных инфекций в одном организме, которые, взаимодействуя друг с другом, в сочетании с токсическим влиянием на печень противотуберкулезной и антивирусной терапии усугубляют состояние больных. Необходимо отметить, что неблагоприятное влияние одной хронической инфекции на другую приводит к модификации эпидемиологических черт и клинических проявлений болезни, а на фоне

измененного иммунитета ухудшается эффективность лечения.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – проведение корреляционного анализа собственных материалов клинического, лабораторного и эпидемиологического исследования больных с комбинированной двойственной и тройственной инфекцией (туберкулез, ВИЧ, вирусные гепатиты).

М а т е р и а л ы и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . Проведен анализ клинических, биохимических и иммунологических результатов обследований больных в СПб и Хошимине (Вьетнам), в том числе 453 больных тройственной инфекцией (ТБ+ВИЧ + ВГ), 48 больных туберкулезом и ВИЧ (ТБ+ВИЧ), а также 304 пациентов, заразившихся ВИЧ-инфекцией парентеральным или половым путем, инфицированных вирусами гепатита В или С (ВИЧ+ВГ). Для определения изменений в иммунологическом статусе у всех пациентов проведено изучение основных показателей клеточного звена иммунитета (CD3, CD4, CD8) и иммунорегуляторного индекса CD4:CD8).

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я и и х о б с у ж д е н и е .

А) Тройственная инфекция: ТБ, ВИЧ и ВГ. Среди 453 обследованных пациентов в Санкт-Петербурге в 81,6% преобладали мужчины, 88% больных были в

возрасте 21–39 лет, 82,4% нигде не работали. 80% больных заразились парентеральным и 20% – половым путем. Следует отметить, что у большинства (94,4%) больных вирусный гепатит и туберкулез определены уже на фоне ВИЧ-инфекции, то есть на фоне формирующегося или сформировавшегося иммунодефицита.

Подавляющее большинство (95,8%) больных туберкулезом в момент обследования имели 3 стадию ВИЧ-инфекции – стадию вторичных заболеваний. Наиболее часто ставился диагноз: ВИЧ-инфекция, стадия 3 Б – 55,8%, стадия 3 А выявлялась в 2 раза реже – 26%, стадия 3 В (14%) – в 4 раза реже ($p < 0,001$). Этот факт указывает на то, что больные, находящиеся в специализированном противотуберкулезном стационаре, имеют выраженные вторичные изменения, характерные для ВИЧ-инфицированных.

Активный туберкулезный процесс в легких расценивался как ограниченный (поражение ВГЛУ, или 1–2 сегментов легких) у четверти больных (23,4%). Распространенные изменения (поражение более двух сегментов легких, плевриты, внелегочный туберкулез) имели место у 76,6% обследованных. Наиболее часто у больных выявляли диссеминированный (35,0%) и инфильтративный туберкулез легких (33,7%). В два раза реже диагностировали туберкулез внутригрудных лимфатических узлов (15,6%), а также экссудативный плеврит и эмпиему плевры (14,3%). Хроническое течение туберкулеза легких (ФКТ) регистрировали только в 5,2% случаев, туберкулемы – в 3,9%. Внелегочный туберкулез выявлен у 16,9% больных. Необходимо отметить, что поражение периферических лимфатических узлов отмечено у большинства больных этой немногочисленной группы (81,8%). На втором месте по частоте поражения оказались органы ротовой полости, гортани и кишечника (36,4%), что, вероятно, связано с входными воротами (алиментарный путь) для туберкулезной инфекции. Гематогенный путь распространения МБТ дал такие осложнения туберкулеза, как туберкулезные менингит (9%), спондилит (9%), туберкулез почек (9%) и туберкулез глаз (9%).

При изучении МБТ методами прямой микроскопии мокроты и бактериологическим положительные результаты получены у 57,1% больных, соответственно у 42,9% больных МБТ в мокроте обнаружены не были. МБТ, устойчивые к противотуберкулезным препаратам, определены у 47,7% (21 чел.) лиц. Из них у 66,7% имелась устойчивость к изониазиду, у 62% – к рифампицину, у 62% – к сочетанию изониазида и рифампицина, у 76,2% – к стрептомицину. Полирезистентность (стрептомицин, изониазид, рифампицин) зарегистрирована у 47,6% больных.

Относительное количество CD3 у больных тройственной инфекцией равнялось 66,3% и соответствовало норме. В ходе наблюдения оно увеличилось к 6 мес. срока до 73,9%, что соответствовало росту и абсолютного содержания CD-лимфоцитов с 912,5 до 1453,5 кл/мкл. Относительное количество CD4 (Т-

хелперов) при поступлении в стационар было ниже нормы и к 6 мес. сроку осталось практически без изменения (25,1–24,9%). Средние значения CD4, хотя и увеличились к 2-х месячному сроку лечения, тем не менее, были меньше нормативных показателей. Доля больных, у которых содержание CD4 было в пределах от 200 до 500 мк/мкл, значительно варьировала. Так, при поступлении больных в стационар, в зависимости от распространенности туберкулезного процесса, выявлено от 63,6 до 38,9% таких пациентов. К концу основного курса лечения туберкулеза (6 мес.) их число уже колебалось от 21,2 до 16,7%, что в три раза меньше исходного показателя. В то же время увеличивался процент больных с 15,2 до 44,4% со средним содержанием выше 500 мк/мкл. Эти показатели свидетельствуют об улучшении иммунитета в результате активного лечения туберкулеза. Коэффициент отношения CD4/CD8 при поступлении больных и в конце лечения несколько увеличивался, но был во все периоды ниже нормы.

Необходимо отметить, что у госпитализированных в клинику больных ТВ+ВИЧ+ВГ во Вьетнаме (г. Хошимин) средний уровень CD4 -лимфоцитов (192,2 кл/мкл) существенно отличался от такового в Санкт-Петербурге, свидетельствуя о запущенном процессе смешанной инфекции. У 56,3% пациентов содержание CD4 было менее 200 кл/мкл. После комбинированного лечения в течение 6 месяцев средний уровень повысился до 254,2 кл/мкл, по сравнению с исходными показателями.

Одним их косвенных показателей иммунитета у больных сочетанной с туберкулезом инфекцией является туберкулиновая проба Манту. Выраженная положительная реакция Манту (от 15–16 мм и более) наблюдалась у 25,5%, отрицательная и сомнительная – у 14,9%. Таким образом, результаты свидетельствуют о сохранении специфического иммунитета у 65,9% больных тройственной инфекцией.

Представляется важным раздел изучения уровня инфицирования вирусными гепатитами больных ТВ+ВИЧ. Наши исследования выявили нарастание доли больных с ВГ в течение пяти лет с 68,3% (Фоменкова Н.А., 2002) до 87,2% (Ле Тоан., 2006). При этом отмечается выраженное изменение качественных показателей. Так, поражение ВГВ несколько снизилось с 10,7% до 2,4%. В то же время значительно выросло число больных инфицированных ВГС с 42,8% до 51,2%. Уровень поражения ВГВ+ВГС сохранился на том же уровне (46,5% и 46,4%). Все это свидетельствует об утяжелении контингента больных в специализированном туберкулезном стационаре, что связано как с поздним выявлением более тяжелых случаев микст – патологии (ТВ+ВИЧ+ВГ), так и с продолжением приема наркотиков у выявленных ранее больных ВИЧ [1].

Б) Туберкулез и ВИЧ-инфекция. Из 48 больных группы 83,3% были в возрасте от 21 до 40 лет, 77,1% представлен мужчинами, 83,3% не работали. В структуре заражений преобладало парентеральное (85,4%)

со стажем употребления наркотиков до 3 лет. Первичное инфицирование ВИЧ выявлено у 45,8% больных, одновременное – в 22,9% случаев. У больных выявлялись инфильтративные, диссеминированные формы и туберкулез внутригрудных лимфатических узлов (77,1%). Частота осложнений и оппортунистических заболеваний составила 14,6 и 33,4% соответственно.

Средние иммунологические показатели у больных ТВ+ВИЧ в динамике (CD3-CD4) имели однонаправленный характер. К 2-х месячному сроку лечения они повысились в среднем на 10,5–10,9%, а к 6-месячному снизились по отношению к исходным цифрам. Средний иммунологический показатель CD8 к 2 и 6 месяцам лечения снижался по сравнению с исходным уровнем.

Проведенное исследование иммунного статуса у больных туберкулезом и ВИЧ установило значительные его изменения по всем параметрам относительно нормативных показателей. Так, уровень CD3 оказался выше на 15%, Т-хелперов (CD4), и цитотоксических Т-лимфоцитов, наоборот, ниже нормы в 1,5 раза. Показатели CD3, CD4 и CD8 в группе сравнения мало отличались от таковых у больных туберкулезом + ВИЧ, свидетельствуя о незначительном вкладе туберкулеза в иммунный статус пациентов. Наибольшие изменения выявлены при анализе иммунорегуляторного коэффициента, который оказался в 2 раза меньше по сравнению с нормой.

В) ВИЧ инфекция и вирусные гепатиты. Средние иммунологические показатели у больных ВИЧ-инфекцией в сочетании с маркерами ВГ характеризовались в целом, цифрами, приближающимися к норме. Так, среднее количество CD3 было в пределах нормы, CD4 – на нижней границе нормальных значений, CD8 – несколько выше верхней границы нормы. Соотношение CD4/CD8 было существенно ниже нормы.

В сравнительном аспекте установлено, что средний уровень содержания CD4 у больных с тройственной инфекцией достоверно ниже, чем у больных ВИЧ+ВГ, соответственно $482,3 \pm 36,5$ кл/мкл и $591,6 \pm 57,3$ кл/мкл ($p < 0,05$). В то же время уровень CD3 сохранялся в пределах физиологической нормы у большинства больных обеих групп. Сравнение уровней CD8 выявило несколько более высокое их содержание в крови у больных с тройственной инфекцией ($962,3 \pm 85,7$ кл/мкл), чем у больных с ВИЧ+ВГ ($923,7 \pm 75,6$ кл/мкл). Отсюда, соответственно иммунорегуляторный индекс у больных с тройственной инфекцией оказался значительно ниже и равным 0,50, а у больных ВИЧ+ВГ он был снижен до 0,65, при норме 1,0–1,7.

Интересные особенности в иммунном статусе были выявлены у мужчин по сравнению с женщинами, особенно, в зависимости от путей заражения. У мужчин они были повышенными по сравнению с женщи-

нами. Все показатели были существенно выше у пациентов, заразившихся при введении наркотиков внутривенно, чем при половом пути заражения. По-видимому, наркотики, воздействуя на клеточное звено иммунитета, подавляют его не только на начальном этапе, но и в ходе инфекционного процесса.

В ходе инфекционного процесса ВИЧ-инфекции также наблюдались изменения средних иммунологических показателей, особенно у лиц мужского пола. Кроме того, в динамике инфекционного процесса выявлено снижение доли лиц с повышенным содержанием CD3, рост показателя CD4 и соотношения CD4/CD8.

З а к л ю ч е н и е. Таким образом, установлено, что уровень иммунитета у больных с тройственной инфекцией (ТВ+ВИЧ+ВГ) достоверно ниже, чем у больных с ко – инфекцией (ТВ+ВИЧ и ВИЧ+ВГ). На фоне лечения туберкулеза у больных ВИЧ+ВГ наблюдается повышение уровня клеточного иммунитета. Кроме этого, наблюдается неблагоприятная тенденция изменения спектра этиологии вирусных гепатитов и увеличение числа больных с ВГС среди пациентов ТВ+ВИЧ за пять лет, соответственно с 42,8% до 51,2%, при сохранении высокого уровня поражения больных одновременно вирусом В и С (около 46%). В общей популяции впервые выявленных больных, как с тройственной, так и с ко – инфекцией наблюдается снижение клеточного иммунитета за пятилетний период, что обусловлено более тяжелыми формами выявленного туберкулеза и продолжением приема пациентами наркотических средств.

Список литературы

1. Жужгова И.В. Клинико-эпидемиологическая и социально- психологическая характеристика ВИЧ- инфекции в сочетании с гемоконтактными гепатитами и наркоманией: Автореф. дис. ... к. м. н. – СПб., – 2006. – 22 с.
2. Колесников А. Наркомания в России. Состояние, тенденции, пути преодоления. // Безопасность. Информационный сборник фонда национальной и международной безопасности. – М. – 1998. – С. 21–93.
3. Кузьмин О.А., Туркин Е.Н., Никитина Т.Н. и др. Туберкулез и ВИЧ-инфекция в Калининградской области // Проблемы туберкулеза и заболеваний легких. – 2005. – № 10. – С. 37–40.
4. Нечаев В.В., Иванов А.К., Ле Тоан и др. Эпидемиологическая и клинико-лабораторная характеристика вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции у больных туберкулезом. – Вестник СПб. Медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2006. – № 2. – С 125–128.
5. Фоменкова Н.В., Пантелеев А.М., Виноградова Е.Н. и др. Гепатиты у больных туберкулезом и ВИЧ-инфицированных // Материалы VII съезда фтизиатров. – М. – 2003. – С. 230.
6. Фролова О.П. Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу среди больных ВИЧ-инфекцией в России и система мер его профилактики // Проблемы туберкулеза. – 2001. – № 5. – С. 31–34.

© В.М. Цыркунов, Н.В. Матиевская, В.Ф. Еремин, Н.И. Прокопчик, 2008

© V.M. Tsyrukunov, N.V. Matsiueyskaya, V.F. Erenim, N.I. Prokopchik, 2008

ВИЧ-АССОЦИИРОВАННАЯ HCV-ИНФЕКЦИЯ

В.М. Цыркунов¹, Н.В. Матиевская¹, В.Ф. Еремин², Н.И. Прокопчик¹

¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

²Белорусский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь

Цыркунов В.М., Матиевская Н.В., Еремин В.Ф., Прокопчик Н.И. ВИЧ-ассоциированная HCV-инфекция // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). 34–36.

Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет» 230009 Гродно, Беларусь, ул. Горького 80, тел: +375152434286, факс: +375152434286 E-mail: tvml11@mail.ru

Государственное научное учреждение «Белорусский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии», Минск, Беларусь, ул. Филимонова 23, тел: +3750172904459, факс: +3750172904459 E-mail: veremin@mail.ru

Резюме. Анализ клинико-эпидемиологических и лабораторных данных 148 ВИЧ-инфицированных больных позволяет сделать заключение, что ко-инфекция HCV и ВИЧ часто встречающееся явление и представляет из себя качественно новое состояние, которое имеет выраженные отличия от ВИЧ-моноинфекции и моно-HCV-инфекции. Для ко-инфекции характерно взаимоотягощение каждой инфекции, увеличение скорости прогрессирования обеих инфекций, увеличения летальности больных, повышение риска осложнений высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ).

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, HCV-инфекция, биопсия печени, «печеночные» причины смерти, генотипы HCV.

Tsyrukunov V.M. HIV infection associated with HCV infection // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 34–36.

Grodno State Medical University 230009 Ul. Gorkogo 80, Grodno, Belarus тел: +375152434286 факс: +375152434286 E-mail: tvml11@mail.ru

Research Institution of Epidemiology and Microbiology, 220114, Ul. Filimonova 23, phone: +3750172904459, fax: +3750172904459 E-mail: veremin@mail.ru

S u m m a r y . The analysis the clinical, epidemiological and laboratory data in 148 patients with HIV-infections have demonstrated that co-infection HCV and HIV is common situation and new entity which is significantly separated from HCV or HIV mono-infection. The interaction between these infections leads to high morbidity and mortality in HIV and HCV diseases and increasing risk for development of complications on antiretroviral treatment.

K e y w o r d s : HIV-infection, HCV-infection, liver biopsy, liver-related deaths, HCV genotypes.

В ИЧ-инфекция и HCV-инфекция имеют одинаковый механизм передачи, что обуславливает широкую распространенность их в виде ко-инфекции. Частота ко-инфекции зависит от пути передачи вирусов и региона мира. В Западной Европе и США ко-инфекция составляет 13–43% [3]. Наиболее часто она встречается при парентеральном пути передачи, у потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) и у больных гемофилией может достигать 70–95% [4]. Частота передачи HCV половым путем при ко-инфекции увеличивается до 19% [5]. Перинатальная трансмиссия HCV при ко-инфекции отмечается в 2,6 раза чаще, чем при моноинфекции-HCV [2, 10].

Во многих клинических исследованиях, показано, что ВИЧ негативно влияет на все фазы естественного течения HCV-инфекции. Так, частота спонтанного выздоровления при острой HCV-инфекции у ВИЧ-инфицированных больных снижается до 2–9%, в отличие от 20% при моно-HCV-инфекции [6, 10]. Относительный риск формирования гистологически подтвержденного цирроза печени при ко-инфекции по сравнению с моно-HCV-инфекцией в 2,07 раза выше (95% CI: 1.40–3.07). Развитие терминальной стадии цирроза печени происходит значительно быстрее при ко-инфекции (относительный риск – 6.14 (95% CI: 2.86–13.20) [8, 10].

С другой стороны, сопутствующая HCV-инфекция способствует ускорению прогрессии ВИЧ-инфекции в СПИД, повышает риск смерти больных, частоту госпитализаций ВИЧ-инфицированных больных и частоту возникновения оппортунистических инфекций. Кроме того, усложняется мониторинг ВИЧ-инфекции, так как многим больным с ко-инфекцией высокоактивная антиретровирусная терапия не назначается из-за высокого риска возникновения осложнений терапии на фоне HCV-инфекции [5].

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я : изучить клинико-эпидемиологические и морфологические аспекты ВИЧ-ассоциированной HCV-инфекции.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . Под наблюдением находилась группа из 148 ВИЧ-инфицированных. Мужчин – 108, женщин – 40, средний возраст – 32,5 лет. Иммунологическая стадия ВИЧ-инфекции была определена у 77 больных: A1 –14, A2–6, A3–2, B1–8, B2–22, B3–16, C1–1, C2–1, C3–7. Стадия ВИЧ-инфекции у оставшихся 71 больного была определена клинически. Асимптомная стадия –24, пре-СПИД –32, СПИД – 15.

Механизм инфицирования ВИЧ удалось установить у 138 больных в группе. В зависимости от пути инфицирования больные были разделены на 2 группы: 1 группа – парентеральный путь инфицирования

(наркопотребители) – 68 больных, 2 группа – половой путь инфицирования – 70 больных.

Диагностика гепатита С подтверждалась выделением РНК вируса гепатита С. Определение генотипа HCV было выполнено 15 больным. Биопсия печени выполнялась слепым чрескожным методом. Окраска биоптатов печени выполнялась эозином и гематоксилином, по Ван Гизон. Статистический анализ проводился с использованием пакета «Статистика 6».

Результаты исследований

Эпидемиологические аспекты. В группе ВИЧ-инфицированных у 87 (58,8%) из 148 больных обнаружена сопутствующая ко-инфекция вирусами парентеральных гепатитов (ВПГ) С и В. HCV – инфекция обнаружена у подавляющего большинства больных – у 86, что составило 98,9% от всех больных с ко-инфекцией, в том числе у 8 больных выявлена сопутствующая инфекция ВГС + ВГВ, ко-инфекция вирусом гепатита В (ВГВ) отмечена только у 1 больного. Данные результаты отражают общую эпидемиологическую ситуацию в РБ по парентеральным гепатитам, так как на территории РБ заболеваемость хроническими вирусными гепатитами имеет четкую тенденцию к росту, на долю гепатит С приходится около 70% случаев [1].

Была проанализирована частота ко-инфекции ВИЧ и HCV в зависимости от пути инфицирования. Частота ко-инфекции в 1 группе больных с парентеральным механизмом передачи составила 79,4% (54 больных из 68). Во 2 группе больных, получивших ВИЧ половым путем, частота ко-инфекции была значительно ниже по сравнению с 1 группой и составила 38,5% (27 из 70). В то же время данный показатель значительно превышал частоту передачи HCV половым путем при моно-HCV-инфекции. Во 2 группе было значительно больше женщин – 12 из 27 (44,4%), по сравнению с 2 из 54 (3,7%) инфицированных первой группы ($p < 0,05$). Данный факт указывал на возрастание доли женщин при половом пути передачи HCV при ко-инфекции. Большинство больных указало на инфицирование обоими вирусами на территории Республики Беларусь. Только в 5 случаях больные указали на инфицирование за рубежом в таких странах как Россия, Молдавия, Украина.

Генотипы HCV были изучены у 15 больных с ко-инфекцией. Наиболее распространенным вариантом в данной группе больных был генотип 1a – 9 из 15. Большинство больных (10) указало на инфицирование в местах постоянного проживания на территории Белоруссии, 5 были инфицированы за рубежом (Москва, Одесса, Киев). Парентеральный путь передачи HCV в данной группе был выявлен у 9 из 15 инфицированных, половой – у 6. Отмечена тенденция к «сгруппированности» различных генотипов HCV по регионам инфицирования больных, что позволяет более достоверно изучать эпидемический процесс HCV-инфекции на фоне ВИЧ-инфекции.

Клинико-лабораторные аспекты. Известно, что клинические проявления хронической HCV-инфекции при моноинфекции минимальны и, в основном,

представлены набором субъективных синдромов (астенический и диспепсический), а у 1/3 больных и вовсе отсутствуют. Иногда отмечаются такие жалобы, как снижение аппетита, тяжесть и боли в правом подреберье. Размеры печени остаются нормальными у 37,5% больных [6]. При анализе частоты «печеночных» жалоб и клинических симптомов у больных с ко-инфекцией ВИЧ и HCV было установлено, что такие симптомы как тяжесть, боли в правом подреберье чаще всего отсутствовали у данных больных. Иногда больные жаловались на тошноту, снижение аппетита, вздутие живота, различные диспептические расстройства. Желтуха, асцит, печеночные знаки отмечались у больных с декомпенсацией болезни печени. В то же время у 92,5% больных с ко-инфекцией выявлена гепатомегалия, уплотнение печени, изменения при УЗИ печени различной степени выраженности. Нормальные показатели АлАТ отмечены у 37% больных, несмотря на наличие гепатомегалии и уплотнения печени. Увеличение активности АлАТ в 1,5 и более раз от нормы выявлено у 62,9% больных. Таким образом, можно предварительно предположить, что активность АлАТ у ВИЧ-инфицированных больных является еще менее информативным критерием активности инфекционного процесса по HCV-инфекции, чем при моноинфекции.

Морфологические аспекты. Были проанализированы прижизненные биопсии печени 2 больных с ко-инфекцией, инфицированных половым путем.

Больная В, 32 г., генотип HCV – 3a. «Стаж» HCV-инфекции – 5 лет. ВИЧ-инфекция, стадия В2 (CD4+ = 347 кл/мкл). В биоптате печени, несмотря на очень незначительный срок инфицирования, выявлена воспалительная инфильтрация лимфогистиоцитами портальных трактов с формированием ступенчатых некрозов и единичных септальных, выраженные лобулярные некрозы, отмечается наличие стеатоза гепатоцитов. При окраске по Ван-Гизон выявлен выраженный окологлобулярный фиброз, фиброз портальных трактов. Активность по Knodell – 12 баллов, стадия процесса по Knodell – 1 балл.

Больная Д, 34 г., инфицирована ВИЧ и HCV половым путем. Стаж ВГС – инфекции 8 лет, периодически злоупотребляет алкоголем. ВИЧ-инфекция в стадии С3 (CD4+ = 157 кл./мкл). В биопсии печени выявлены признаки выраженного стеатоза гепатоцитов, что в данном случае можно связать с алкогольным поражением печени. Как и у первой больной отмечен выраженный окологлобулярный фиброз, фиброз портальных трактов. Активность по Knodell составила 12 баллов, стадия процесса по Knodell 1 балл.

Таким образом, несмотря на небольшой стаж HCV-инфекции у данных пациенток, выявлены достаточно выраженные изменения в биоптате печени, что указывало на более выраженную прогрессию воспалительно-фиброзных процессов при HCV-инфекции на фоне ВИЧ – инфекции по сравнению с моно-HCV-инфекцией. Данный факт подтверждается в публикациях по данной проблеме. Так, было показа-

но, что средний промежуток времени развития цирроза печени укорачивается до 7 лет [4, 5].

Структура «печеночных» причин смерти при ко-инфекции. При анализе частота и структуры «печеночных» причин летальности среди ВИЧ-инфицированных больных, было установлено, что смерть, связанная с декомпенсацией цирроза печени, зарегистрирована в 9 из 49 случаев (18,3%). В наблюдаемую нами группу вошло 7 мужчин и 2 женщины. Средний возраст больных составил 29,5 лет, при этом в возрасте до 30 лет было 6 больных. Важно подчеркнуть, что 8 (88,9%) из 9 погибших были инфицированы вирусами парентеральных гепатитов (ВПГ): 7 больных HCV, 1 – больной имел микст-инфекцию (HCV+HBV). Если исключить из оставшихся 40 больных 7 больных, гибель которых была связана с травмами и асфиксией, у оставшихся 33 частота инфицирования HCV составила 48,5% – 16 больных (хроническая HCV – инфекция была у 14, HBV – у 2), что было значительно меньше, чем в группе, погибших от «печеночных» причин. Анализ имеющейся медицинской документации установил, что средняя продолжительность промежутка времени для формирования цирроза печени составила 8,5 лет. ВААРТ в данной группе получала 1 больная. Декомпенсация хронической HCV-инфекции у этой больной привела к формированию цирроза печени, портальной гипертензии с развитием массивного кровотечения из варикозных вен пищевода, что привело к смерти. Данный случай квалифицирован как синдром реконструкции иммунной системы (СРИС) на фоне ВААРТ, так как у больной отмечен рост уровня CD4+ Т-лимфоцитов, что явилось причиной обострения и прогрессии имевшейся у больной хронической HCV-инфекции.

Отдельно необходимо выделить результат вскрытия больной Я, 34 г. погибшей от декомпенсации цирроза печени на фоне ко-инфекция. У данной больной выявлена внелегочная форма туберкулеза, проявившаяся поражением печени, селезенки, поджелудочной железы. В печени обнаружены типичные туберкулезные гранулемы с гигантскими клетками Ланганса. Кроме того, в печени имелись признаки мелкоузлового септального цирроза печени, портальная гипертензия, выраженный асцит, варикоз вен пищевода. Присоединение туберкулеза в данном случае можно рассматривать как наложение оппортунистической инфекции. Диагностика туберкулеза была осуществлена посмертно, что подчеркивает сложность диагностики туберкулеза у ВИЧ-инфицированных.

З а к л ю ч е н и е . Предварительные результаты исследований по ко-инфекции ВИЧ и ВГС позволяют заключить, что ко-инфекция ВГС является широко распространенной у ВИЧ – инфицированных больных, особенно в группе с парентеральным путем

инфицирования. Частота трансмиссии половым путем ВГС на фоне ВИЧ-инфекции является значительно более высокой, чем при моноинфекции ВГС. Половой путь передачи способствует возрастанию доли инфицированных женщин среди ко-инфицированных больных, что является неблагоприятной эпидемиологической тенденцией. Анализ клинико-лабораторных данных, включая морфологические исследования печени, указывает, что ко-инфекция HCV и ВИЧ представляет из себя качественно новое состояние, которое имеет выраженные отличия от ВИЧ-моноинфекции и моно-HCV-инфекции. Для ко-инфекции характерно взаимоотягочение каждой инфекции, увеличение скорости прогрессирования обеих инфекций, увеличения летальности больных, повышение риска осложнений ВААРТ. В связи с продолжающимся ростом ВИЧ-инфекции в Республике Беларусь, высокой частотой ко-инфекции ВИЧ и HCV необходимо дальнейшее изучение генетических, эпидемиологических, патогенетических и клинических особенностей хронической HCV – инфекции у ВИЧ-инфицированных больных.

Список литературы

1. Себут Н.Е., Зуева В.Л., Пащкович В.В., Голотик Д.М. Эпидемиологическая характеристика парентеральных вирусных гепатитов в Республике Беларусь за 1996–2005 годы // Материалы научно-практической республиканской конференции. – Мн: УП «Доктор Дизайн», 2006. – С. 44–51.
2. Aberg J., Gallant J., Anderson J. et al. Primary care guidelines for the management of person infected with human immunodeficiency virus recommendations of the HIV medicine association of infectious diseases society of America // CID. – 2004. – N. 39. – P. 609–629.
3. Cooper C.L., Badley A.D., Angel J.B. Characteristics of hepatitis C virus infection in HIV-infected people // Can. J. Infect. Dis. – 2001. – N. 12 (3). – P. 157–163.
4. Koziel M., Peters M. Viral Hepatitis in HIV Infection // N. Engl. J. Med. – 2007. – Vol. 56, N. 10. – P. 1445–1454.
5. Mohsen A.H., Easterbrook P., Taylor C.B., Norris S. Hepatitis C and HIV-1 coinfection // Gut. – 2002. – № 51. P. 601–608.
6. Patel K., Muir A.J., McHutchison J.G. Diagnosis and treatment of chronic hepatitis C infection // BMJ. – 2006. – N 332. – P. 1013–1017.
7. Salmon-Ceron B., Lewden C., Morlat P, et al. Liver disease as a major cause of death among HIV infected patients: role of hepatitis C and B viruses and alcohol // J. Hepatol. – 2005. – № 42. – P. 799–805.
8. Sulkowski S., Benhamou Y. Therapeutic issues in HIV/HCV-coinfecting patients // Journal of Viral Hepatitis. – 2007. – N. 14. – P. 371–386.
9. Weber R., Sabin C.A., Friis-Moller N. et al. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D:A:D study // Arch. Intern. Med. – 2006. – N 166. – P. 1632–1641.
10. Winnock M., Salmon-Ceron D., Dabis F. et al. Interaction between HIV-1 and HCV infections: towards a new entity? // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2004. – № 53. – P. 936–946.

© В.В. Малеев, Т.В. Сологуб, А.Н. Наровлянский, И.И. Токин, Н.А. Семеняко, М.Г. Романцов, 2008

© V.V. Maleev, T.V. Sologub, A.N. Narovlyanskiy, I.I. Tokin, I.V. Folitar, N.A. Semenyako, M.G. Romantsov, 2008

ХРОНИЧЕСКИЙ ГЕПАТИТ С: ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

В.В. Малеев², Т.В. Сологуб¹, А.Н. Наровлянский², И.И. Токин¹, Н.А. Семеняко¹,
М.Г. Романцов¹

¹Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова

²Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи
Российской академии медицинских наук

Малеев В.В., Сологуб Т.В., Наровлянский А.Н., Токин И.И., Семеняко Н.А., Романцов М.Г. Хронический гепатит С: возможности и перспективы противовирусной терапии // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). 37–41.

Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова, кафедра инфекционных болезней, телефон/факс: 8-812-717-27-07

Государственный научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Российской академии медицинских наук, телефон: 8-495-193-43-06

Резюме. Хронический гепатит С остается в Российской Федерации серьезной социальной и медицинской проблемой. Следовательно, лечение этого заболевания требует серьезного подхода и дальнейшего совершенствования. Улучшение существующей терапии сегодня подразумевает добавление третьего препарата к Пэгилированному ИФН и Рибавирину с индивидуальным подбором данного препарата для каждого конкретного больного. Лечение с помощью стандартной схемы часто сопряжено с развитием множественных нежелательных эффектов, более того, только 40–50% пациентов имеют чувствительность к распространенным ИФН-α. Следовательно, при назначении этих препаратов следует использовать схемы, предполагающие включение третьего препарата, либо использовать комбинации ИФН-α, ИФН-γ и Рибавирин, либо ИФН-γ, Циклоферона, Дерината и Ферровира.

Под наблюдением находились 111 больных ХГС, которые были разделены на 4 группы в зависимости от схемы их дальнейшего лечения. Пациенты 2-х групп, кроме традиционно используемых препаратов (ИФН-α и Рибавирин), получали третий препарат: 38 человек в качестве третьего препарата получали последовательно Циклоферон в течение 3-х месяцев, а в дальнейшем ДНК-содержащие препараты Деринат или Ферровир – схема 1, 38 человек получали комбинированную терапию, включающую ИФН-α, ИФН-γ – Ингарон и Рибавирин – схема 2. У 11 больных оценивалась эффективность Циклоферона и ИФН-α без Рибавирин, так как у данной категории больных наблюдалась индивидуальная идиосинкразия к Рибавирину – схема 3. В качестве группы сравнения использованы данные лечения 24 больных ХГС, получавших стандартную терапию – ИФН-α и Рибавирин – схема 4.

Как показали исследования, достоверного различия в эффективности терапии больных с различным генотипом HCV получено не было. Более того установлено, что использование комбинированных схем с включением третьего препарата более целесообразно больным с 1-м генотипом, так как в этом случае эффективность терапии приближается к данным, полученным при использовании Пэгинтерферонов (73%). Вместе с тем, пациенты, имеющие не 1-ый генотип чаще, чем аналогичная группа больных 1-го генотипа длительно сохраняют УВО. Перспективной представляется схема лечения с включением принципиально нового ИФН – препарата Ингарон, введение которого не сопряжено с развитием нежелательных явлений, напротив, у лиц, получавших данную схему лечения, реже наблюдались нарушения гематологических показателей, вегетативная и эндокринная симптоматика.

Ключевые слова: вирусный гепатит С, лечение, вирусологический ответ, Ингарон, Циклоферон, Рибавирин, Интерферон – альфа, Деринат, Ферровир.

V.V. Maleev, Sologub T.V., Narovlyanskiy A.N., Tokin I.I., Semenyako N.A., Romantsov M.G. Chronic viral hepatitis C: means and prospects of antiviral therapy // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 37–41.

Saint-Petersburg State Medical Academy named after I.I. Mechnikov, Infectious diseases department; phone/fax: 8-812-717-27-07

State Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya of RAS, phone: 8-495-193-43-06

S u m m a r y : In Russia chronic hepatitis C is still a serious social and medical problem. Therefore these patients should be treated seriously and the therapy should be modified. The improving of the present therapy implies the addition of the third drug to pegylated interferon with individual dosing and adjustment. Standard treatment is often accompanied with numerous adverse effects, only 40–50% of the patients are susceptible to approval alpha-interferons. That is why physicians should use the schemes including the third medication or use the combinations of IFN-alpha, IFN-gamma and ribavirin or IFN-gamma, Cycloferon, Derinat and Ferrovir.

111 chronic hepatitis C patients were divided in 4 groups depending on their treatment. The patients of two groups were given the third preparation in addition to standard drugs (IFN-alpha and ribavirin), 38 patients were given Cycloferon during 3 months and then DNA-contained Derinat and Ferrovir (scheme 1). 38 patients were given combined therapy including IFN-alpha, IFN-gamma – Ingaron and Ribavirin (scheme 2). Efficacy of Cycloferon and IFN-alpha without Ribavirin was evaluated in 11 patients who had intolerance to Ribavirin (scheme 3). The group to compare included 24 chronic hepatitis C patients who were given standard treatment – IFN-alpha plus Ribavirin (scheme 4).

The study showed the absence of difference in treatment benefits in the patients with different genotypes HCV. Combined schemes included the third drug was established to be more efficient in genotype 1 patient because in this case benefits were the similar with pegylated interferons therapy (73%). Non genotype 1 patients were saving sustained virological response more frequently than genotype 1 patients. The scheme with new IFN Ingaron is perspective because the administration is not accompanied with adverse effects, and the patients developed blood disturbance, vegetative and endocrine symptoms more rare.

K e y w o r d s : viral hepatitis C, therapy, virological response. Ingaron, Cycloferon, Ribavirin, Interferon-alpha, Derinat, Ferrovir.

Хронический гепатит С остается в Российской Федерации серьезной социальной и медицинской проблемой. Несмотря на некоторое снижение регистрируемых острых форм болезни, хронические формы вирусного гепатита С во всех регионах РФ регистрируются на достаточно высоком уровне [10]. По данным официальной статистики, на территории РФ число больных хроническим гепатитом С приближается к 2 миллионам. Причем, более половины из них являются лицами молодого возраста (18–39 лет), что позволяет относить данную инфекцию в разряд социально-значимых заболеваний. Сегодня хорошо изучен патогенез хронического гепатита С, в этой связи, теоретически каждая стадия в цикле репликации вируса может быть ингибирована лекарственным препаратом. Разработка лекарственных средств в настоящее время идет по двум основным направлениям, предусматривающим воздействие препарата на возбудитель и на улучшение условий взаимодействия вируса и лекарственного препарата.

«Золотой» стандарт лечения хронического гепатита С с использованием комбинации Пэгилированных интерферонов (ИФН) и Рибавирина обеспечивают как противовирусный, так и иммуномодулирующий эффект [1, 5, 8]. Вместе с тем, ни ИФН- α , ни Рибавирин не разрабатывались специально для лечения вирусного гепатита С. Специфическими препаратами считаются только те лекарственные средства, которые оказывают непосредственное воздействие на вирусные мишени. Для вируса гепатита С – это его два основных фермента: NS3-серин-протеаза и NS5-B-РНК-зависимая полимеразы. В этой связи самую большую надежду в радикальном изменении представления о природе и успехе лечения гепатита С представляют собой ингибиторы протеазы и полимеразы этого вируса. В 2001–2002 гг. начались клинические испытания ингибитора протеазы BILN 2061. Были получены первые обнадеживающие результаты, однако дальнейшее изучение этого препарата показало его высокую кардиотоксичность. В связи с этим исследования были приостановлены и, по-видимому, в ближайшее время не будут продолжены. Сейчас проводятся разработки новых нуклеозидных и нуклеотидных ингибиторов полимеразы HCV, в частности, продолжаются клинические испытания нуклеозидного аналога ингибитора полимеразы HCV – препарата Иденикс. Возможность получения высокоэффективного и малотоксичного препарата для лечения гепатита С вселяет надежду больным с непереносимостью и резистентностью к существующей терапии [9, 11]. Кроме того, проводятся клинические испытания новых неспецифических противовирусных средств: иммуномодуляторов и лечебной вакцины. К сожалению, в ближайшее время не будут утверждены даже самые многообещающие препараты, так как их клинические испытания еще только проводятся, и судить об их безопасности и эффективности еще преждевременно. Таким образом, улучшение существующей терапии сегодня подразумевает добавление третьего препара-

та к Пэгилированному ИФН и Рибавирину с индивидуальным подбором препарата и его дозы для каждого конкретного больного [6]. В последние годы стали проводиться исследования по изучению эффективности альтернативных схем лечения больных ХГС. Если в начале 90-х годов устойчивый ответ на противовирусную терапию удавалось получить только у 10% – 20% больных, то в настоящее время эффективность терапии достигает 60% – 80%. В ряде исследований было показано, что при хроническом гепатите С именно эрадикация вируса определяет улучшение гистологической картины печени и выживаемости больных. Следовательно, главной целью терапии является устойчивый вирусологический ответ, проявляющийся отсутствием РНК вируса гепатита С в плазме крови через 24 недели после окончания терапии.

Лечение с помощью стандартной схемы часто сопряжено с развитием множественных нежелательных эффектов, таким образом, раннее выявление тех пациентов, у которых лечение в будущем окажется неэффективным, позволило бы избежать этого нежелательного явления. Выявление факторов, определяющих эффективность противовирусного лечения, позволило бы индивидуализировать схемы лечения, определить оптимальную его длительность и добиться максимального вирусологического ответа в каждом отдельном случае.

Так как терапия должна быть строго индивидуализированной, нами проведена попытка изучить чувствительность больных ХГС к отдельным противовирусным препаратам с использованием метода интерфероновой прайминга. Пациентов считали чувствительными к препаратам, если клетки их крови отвечали увеличением препарат-индуцируемой продукцией ИФН в условиях интерфероновой прайминга. Как показали предыдущие исследования, здоровых людей можно условно разделить на 4 группы: 1-ая группа лиц, имеющих чувствительность только к ИФН- α ; 2-ая группа лиц, имеющих чувствительность только к ИФН- γ , 3-я – чувствительные как к ИФН- α , так и к ИФН- γ и 4-ая – резистентные к ИФН. На большом фактическом материале удалось установить, что среди здоровых лиц чувствительность к обоим типам ИФН отмечалась у 37% обследованных, к ИФН- α – у 77%, к ИФН- γ – 53%. Резистентность к ИФН была выявлена лишь у 7% здоровых лиц. Следует особо отметить высокую чувствительность здоровых лиц к индуктору ИФН Циклоферону и ДНК-препарату Деринат (61%).

При определении чувствительности к различным препаратам больных хроническим гепатитом С установлено, что далеко не все больные демонстрировали высокую чувствительность к различным противовирусным препаратам даже на старте терапии (табл. 1). Примерно 40–50% пациентов не имеют чувствительности к распространенным ИФН- α , а четверть больных не чувствительны к ИФН- γ . Следовательно, при назначении этих препаратов следует использовать схемы, предполагающие включение третьего препарата, либо

Таблица 1

Чувствительность больных хроническим вирусным гепатитом С к различным препаратам

Препараты	Число больных	Число лиц, имеющих чувствительность к препарату	
		Абс	%
Ингарон	60	44	73,3
Деринат	56	34	60,7
Интрон А	55	33	60,7
Роферон	56	29	51,8
Альфаферона	56	28	50,0
Циклоферон	56	33	60,7

использовать комбинации ИНФ-α, ИНФ-γ и Рибавирин, либо ИНФ-γ и Циклоферона [7]. Кроме того, учитывая возможность развития нежелательных явлений, патогенетически обоснованным является включение в схему лечения ДНК-содержащих препаратов: Деринат и Ферровир [2]. Например, гамма-интерферон обладает прямым действием на репликацию вирусной РНК, блокируя синтез (-) -цепей геномной РНК вируса гепатита С, что принципиально отличается от механизма действия ИНФ-α, следовательно можно ожидать, что сочетанное использование данных препаратов повысит противовирусный их эффект [3, 4]. Препараты Деринат и Ферровир, воздействуя на эффекторную и регуляторную функции иммунной системы, обладают как противовирусным, так и иммуномодулирующим эффектом, более того, при их назначении значительно снижается число нежелательных явлений, что позволяет не отменять и не снижать дозы противовирусных препаратов. В предыдущих исследованиях в рамках традиционных клинических протоколов, нами показано значительное повышение эффективности лечения гепатита С при сочетанном использовании препаратов ИНФ-α и ИНФ-γ (Ингарон). Более того установлено, что использование препарата Ингарон в лечении гепатита С позволяет решить проблему терапии «трудного» больного [7, 12].

Ц е л ь ю р а б о т ы явилось изучение целесообразности включения третьего препарата в схему лечения больных ХГС.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . Под наблюдением находились 111 больных ХГС, которые были разделены на 4 группы в зависимости от схемы их дальнейшего лечения. Пациенты 2-х групп, кроме традиционно используемых препаратов (ИНФ-α и Рибавирин), получали третий препарат: 38 человек в качестве третьего препарата получали последовательно Циклоферон в течение 3-х месяцев, а в дальнейшем ДНК-содержащие препараты Деринат или Ферровир – схема 1, 38 человек получали комбинированную терапию, включающую ИНФ-α, ИНФ-γ – Ингарон и Рибавирин – схема 2. У 11 больных оценивалась эффективность Циклоферона и ИНФ-α без Рибавирина, так как у данной категории больных наблюдалась индивидуальная идиосинкразия к Рибавирину – схема 3. В качестве группы сравнения использованы данные лечения 24 больных ХГС, получавших стандартную терапию – ИНФ-α и Рибавирин – схема 4 (табл. 2).

Все больные обследовались по общепринятой в гепатологической практике методике. Включение больных в исследование осуществлялось традиционным методом с исключением пациентов, страдающих тяжелыми соматическими и эндокринными заболеваниями. В исследование не включались лица, имеющие алкогольную и наркотическую зависимость. Клиническое и лабораторное обследование проводилось на старте терапии, через один, три и шесть месяцев лечения, а для больных с 1-м генотипом HCV – и через 12 месяцев. Все больные наблюдались после завершения курса лечения в течение 6–12 месяцев.

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я и х о б с у ж д е н и е . Как показали исследования, часть больных имела быстрый вирусологический ответ (БВО) уже через месяц лечения. Как правило, у этих же больных наблюдался стойкий вирусологический ответ (СВО) через 6 и 12 месяцев от конца терапии. Ранний вирусологический ответ (РВО), наблю-

Таблица 2

Общая характеристика обследованных больных хроническим гепатитом С

Схема лечения	Число больных	Средний возраст (М ± m)	АЛТ-старт (М ± m) ед/л	PCR-старт (М ± m) МЕ/мл
Схема 1				
1 генотип	18	34,2 ± 3,6	85,0 ± 1,2	704 000 ± 3600
не 1 генотип	20	34,4 ± 4,1	122,0 ± 0,9	1 055 000 ± 1200
Схема 2				
1 генотип	14	33,5 ± 3,3	101,0 ± 3,7	2 255 896 ± 6500
не 1 генотип	24	34,3 ± 3,1	92,0 ± 1,8	684 000 ± 12340
Схема 3				
1 генотип	7	33,2 ± 5,2	131,0 ± 2,5	987 166 ± 21650
не 1 генотип	4	32,6 ± 4,3	137,5 ± 3,1	548 850 ± 8130
Схема 4				
1 генотип	13	34,5 ± 3,6	120,0 ± 3,0	1 380 233 ± 43680
не 1 генотип	11	33,2 ± 4,3	105,0 ± 2,8	740 000 ± 7120
Всего	111			

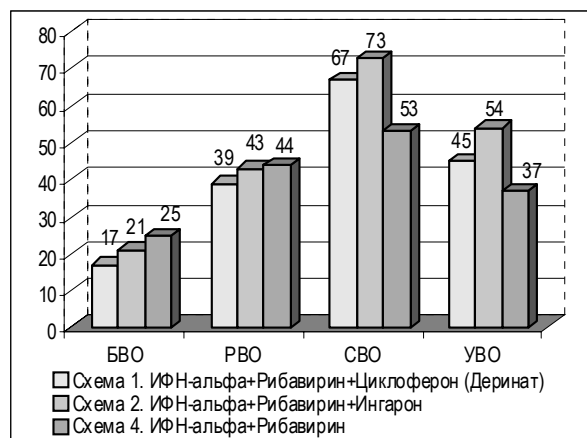


Рис. 1. Динамика вирусологического ответа у больных хроническим гепатитом С 1 генотипа

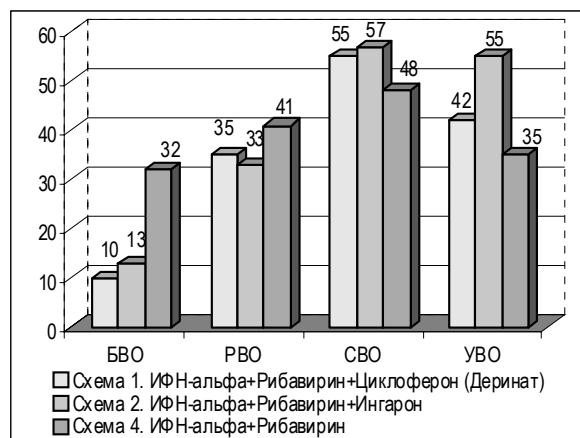


Рис. 2. Динамика вирусологического ответа у больных хроническим гепатитом С не 1 генотипа

дался более чем у четверти больных с 1 генотипом HCV, получавших в комплексном лечении препарат Циклоферон, и почти у половины пациентов, в схему лечения которых включался Ингарон. Эту же закономерность сохранили больные и через 6 месяцев терапии (39% и 43%). Полный вирусологический ответ был получен у 73% больных получавших Ингарон и у 67% больных получавших Циклоферон. Устойчивый вирусологический ответ (УВО) удалось сохранить почти половине пациентов обеих групп (рис. 1, 2).

Как показали исследования, достоверного различия в эффективности терапии больных с различным генотипом HCV получено не было. Более того, установлено, что использование комбинированных схем с включением третьего препарата более целесообразно больным с 1-м генотипом, так как в этом случае эффективность терапии приближается к данным, полученным при использовании Пэгинтерферонов (73%). Вместе с тем, пациенты, имеющие не 1-ый генотип чаще, чем аналогичная группа больных 1-го генотипа длительно сохраняют УВО. Следует особо остановиться на группе больных, не получавших Рибавирин (схема 3). У пациентов этой группы практически отсутствовали нежелательные явления, больные вели привычный образ жизни, более того, у них повышался жизненный тонус и сопротивляемость к банальным вирусным инфекциям. Вследствие немногочисленности группы (11 человек) трудно было в процентном отношении оценить эффективность предлагаемой схемы, вместе с тем, получены предварительные данные, которые свидетельствуют о целесообразности такого лечения. Исследования в этом направлении продолжаются.

З а к л ю ч е н и е . Становится совершенно очевидно, что терапия больных ХГС должна быть максимально персонализированной, с учетом чувствительности организма к противовирусным препаратам. Учитывая развивающуюся резистентность к ИНФ-α, необходимо в стандартную терапию включать ИНФ-γ, препарат Ингарон, а также Циклоферон

и ДНК-содержащие препараты – Ферровир и Деринат, которые позволяют повысить эффективность терапии, сократить ее сроки и повысить качество жизни пациентов на момент лечения. Перспективной представляется схема лечения с включением принципиально нового ИНФ – препарата Ингарон, введение которого не сопряжено с развитием нежелательных явлений, напротив у лиц, получавших данную схему лечения реже наблюдались нарушения гематологических показателей, вегетативная и эндокринная симптоматика.

Список литературы

1. Еришов Ф.И. Пять десятилетий интерферона // Интерферону – 50 лет: Материалы научной конференции (Москва, 2007 г.) / Под редакцией академика Ф.И. Еришова. – М. – 2007. – С. 11–35.
2. Каплина Э.Н., Вайнберг Ю.П. Деринат – природный иммуномодулятор для детей и взрослых. – М., 2005.
3. Киселев О.И., Еришов Ф.И. Интерферон-гамма: новый цитокин в клинической практике. – М. – 2007. – С. 15–46.
4. Киселев О.И., Еришов Ф.И., Деева Э.Г. Интерферон-гамма. Структура и свойства // Интерферону – 50 лет: Материалы научной конференции / Под редакцией академика Ф.И. Еришова. – М. – 2007. – С. 35–44.
5. Сологуб Т.В. Баранова И.П., Коваленко С.Н., Шульдяков А.А., Романцов М.Г. Оптимизация «золотого стандарта» в лечении больных хроническим вирусным гепатитом С // Вестник Санкт-петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2006. – № 4. – С. 124–130.
6. Сологуб Т.В., Еришов Ф.И., Романцов М.Г. Эффективность иммуномодуляторов в комплексной терапии хронических вирусных гепатитов // Лекарственные средства, применяемые при вирусных заболеваниях: Руководство для врачей. – М., – 2007. – С. 158–163.
7. Balan V., Rosati M., Anderson M., Rakela J. Successful treatment with novel triple drug combination consisting of interferon-gamma, interferon alfacon-1, and ribavirin in a non-responder HCV patient to pegylated interferon therapy // Dig. Dis. Sci. – 2006. – Vol. 51. – № 5. – P. 956–959.
8. Brok J. et al. Effects of adding ribavirin to interferon to treat chronic hepatitis C infection: a systematic review and meta-

analysis of randomized trials // Arch. Intern. Med. – 2005. – Vol. 165. – P. 2206–2212.

9. Cornberg M., Deterding K., Manns M. Present and future therapy for hepatitis C virus // Expert Rev. Anti. Infect. Ther. – 2006. – Vol. 4. – № 5. – P. 781–793.

10. Hepatitis C: global prevalence // Wkly Epidemiol. Rec – Geneva: W.H. O. – 1997. – Vol. 72. – P. 341–344.

11. Laursen A., Vilstrup H. Treatment of chronic hepatitis C-ribavirin plus interferon. An analysis of a systematic Cochrane review. Ugeskr Laeger. 2006. – Vol. 168. – № 48. – P. 4209–4212.

12. Liu L.W. et al. Early prediction of nonresponders to treatment with interferon alpha-2b and ribavirin in patients with chronic hepatitis C // Can. J. Gastroenterol. – 2003. – Vol. 17. – P. 483–487.

© А.С. Кветная, Л.И. Железова, 2008

© A.S. Kvetnaya, L.I. Zhelezova, 2008

ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ДИСБИОЗА ПРОСВЕТА ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ У ДЕТЕЙ

А.С. Кветная, Л.И. Железова

Научно-исследовательский институт детских инфекций Росздрава, Санкт-Петербург, Россия

Кветная А.С., Железова Л.И. Этиопатогенетические механизмы формирования дисбиоза просвета толстой кишки при острых кишечных инфекциях у детей // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 41–43.

Федеральное государственное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Росздрава», Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 9, +7 (812) 234-36-73.

Резюме: На основе комплексной оценки клинико-anamnestических показателей, гено-фенотипических особенностей возбудителя и условно патогенных микроорганизмов (УПМ), уровня Ig класса А в копрофильtrate и функциональной активности полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПЯЛ) установлены ведущие механизмы развития глубоких микроэкологических нарушений слизистой толстой кишки: со стороны макроорганизма – возраст, отягощенный преморбидный фон, характер вскармливания, частые заболевания ОРВИ, патология желудочно-кишечного тракта (ЖКТ); возбудителя – экспрессия факторов патогенности возбудителя и характер его взаимодействия с эпителиоцитом. Под наблюдением находилось 756 детей, с этиологически подтвержденным диагнозом острая кишечная инфекция (ОКИ) в возрасте от 2-х мес. до 14-ти лет

Ключевые слова: дети различных возрастных групп, дисбактериоз просвета толстой кишки, острые кишечные инфекции, условно патогенная микрофлора, факторы патогенности.

Kvetnaya A.S., Zhelezova L.I. Ethioopathogenetic mechanisms of disturbances development in large intestine mucosa in children with acute intestinal infections // A.S. Kvetnaya // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 41–43.

«Federal State Institution of Pediatric Infections, Federal Agency for Health Care and Social Development», 197022, Saint-Petersburg, Russia, Street prof. Popova, 9. Phone: +7 (812) 234-36-73

Symmary: Basing on complex evaluation of anamnesis and clinical manifestations, peculiarities of pathogens' and relative pathogens' genotype and phenotype, IgA level in coprofiltrate and functional activity of granulocytes the leading mechanisms of deep microecological disturbances development in large intestine mucosa were stated. For microorganism they were the following: age, premorbid condition, type of feeding; frequent respiratory viral infections, diseases of gastrointestinal tract; for microorganism – pathogenity factors expression and type of the interaction between the pathogen and epitheliocyte. 756 children aged from 2 months to 14 years were observed, all had the aethiologically confirmed diagnosis of acute intestinal infection.

Keywords: children of different age groups, disbiosis, acute intestinal infections, relative pathogens, pathogenity factors.

В патогенезе развития тяжелого течения острой кишечной инфекции (ОКИ) особая роль принадлежит нарушениям состава микрофлоры кишечника с активной персистенцией условно патогенных микроорганизмов (УПМ). Однако современные представления об этиопатогенетической значимости характера изменений микроэкологических процессов в просвете толстой кишки не позволяют однозначно оценить значение УПМ в развитии кишечных инфекций [1, 3, 4, 8, 9].

Цель исследования – выявить ведущие этиопатогенетические механизмы формирования дисбактериоза кишечника при ОКИ у детей на основе изучения состояния неспецифической резистентности макроорганизма и гено-фенотипических особенностей возбудителя и УПМ.

Материалы и методы исследования. Проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 756 детей в возрасте от 2-х

месяцев до 14-ти лет с диагнозом ОКИ различной этиологии. Материалом для исследования служили пробы испражнений, копрофильtrатов, сывороток крови и штаммы возбудителей и УПМ, выделенных от больных ОКИ. Лабораторные исследования проводились в динамике заболевания на 1–3 и 7–10 дни болезни. Выделение и идентификацию возбудителей и УПМ проводили общепринятыми методами микробиологической диагностики. Гено-фенотипический профиль микроорганизмов изучен на 234 штаммах. Определены: гидрофобность, адгезивность, гемолитическая, антилизоцимная (АЛА), дезоксирибонуклеаза (ДНК-азная) и лизоцимная активности. Способность изолятов вырабатывать β – лактамазу и хлорамфениколацетилтрансферазу. Для подтверждения этиологической роли УПМ использовали серологическую реакцию агглютинации (РА) с аутоштаммом. Характер местного иммунитета определяли по количеству общего Ig класса А в копрофильtrате на основе реак-

ции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) с использованием люминесцирующих моноспецифических диагностических антител против Ig A человека (НИИЭМ им. Гамалеи АМН РФ). Исследование микроструктуры просвета толстой кишки и оценка полученных результатов проводились в соответствии с разработанным отраслевым стандартом [2,6].

Результаты исследования и их обсуждение. Независимо от этиологии ОКИ, у всех детей ($n = 756$) в острый период инфекционного процесса регистрировался дисбактериоз просвета толстой кишки, но с различной степенью выраженности.

У детей до 1-го года с сальмонеллезом тифимуриум (5 детей, 100%), в группе детей до 3-х лет с эшерихиозами энтеропатогенными, энтеротоксигенными, энтероинвазивными (ЭПЭ, ЭТЭ, ЭИЭ) и ротавирусной инфекцией (29 детей, 90,7%; 41 реб., 57,7%, соответственно), а также у детей от 3-х до 7-ми и старше с иерсиниозной инфекцией (7 детей, 87,5%) и дизентерией (Флекснер 2а – 128 детей, 89,5% и Зонне – 33 реб., 89,2%) достоверно чаще в просвете толстой кишки регистрировались глубокие дисбиотические нарушения ($p < 0,05$, дисбактериоз кишечника III степени).

Установлено, что основными условиями и факторами, влияющими на глубину и характер дисбиотических нарушений просвета толстой кишки у детей до 1-го года, явились: смешанное – искусственное вскармливание (89,7%, 169 детей), перинатальная (47,4%, 89 детей) и внутриутробная инфекции (24,0%, 45 детей). У детей от 1-го до 3-х лет регистрировались частые ОРВИ (45,0%, 57 детей) и аллергодерматозы (37,8%, 38 детей). В анамнезе детей от 3-х до 7-ми и старше доминировали заболевания ЖКТ (68,3%, 301 реб.), частые ОРВИ (54,9%, 242 реб.) и аллергодерматозы (27,6%, 122 реб.).

При третьем типе взаимодействия возбудителя с эпителиоцитом (дизентерии Флекснер 2а и эшерихиозе 0124) в первые три дня развития инфекционного процесса в просвете толстой кишки практически у всех больных (85,1% – 100%, соответственно, $p < 0,05$) микроструктура просвета толстой кишки отличалась высокой частотой выделения возбудителя в монокультуре: при дизентерии Флекснер 2а в $86,2 \pm 2,7\%$ случаев, при эшерихиозе, вызванном ЭИЭ 0124 в $75,0 \pm 2,5\%$, $p < 0,05$. При этом в $88,6 \pm 1,7\%$ случаев наблюдалось резкое снижение (до $3 \lg/g$ КОЕ) общего количества полноценной кишечной палочки, угнетение уровня до $5-7 \lg/g$ КОЕ *B. bifidum* – в $92,3 \pm 1,8\%$ и *Lactobacillus spp.* – в $73,1 \pm 1,5\%$. Из представителей УПМ (с КОЕ $1-3 \lg/g$) достоверно чаще при дизентерии Флекснер 2а и Зонне выделялась *K. pneumoniae*, при эшерихиозе, обусловленном ЭИЭ 0124 – *S. aureus*. Все штаммы ЭИЭ (12 изолятов, 100%) и большинство изолятов шигелл Флекснер 2а (47 культур, 69,1%) обладали высокими колонизационными и персистентными характеристиками: с показателями гидрофобности $0,6 \pm 0,14$ мл и $0,4 \pm 0,12$ мл (соответственно),

адгезивности (СПА – средний показатель адгезии) – ? 7–11, (соответственно), ДНК-азной активности ?2 мм ($66,7\% - 88,0\%$, соответственно) и АЛА ?11 мкг ($58,3\% - 52,4\%$, соответственно), наличием у всех (100%) штаммов лизоцимного фермента, $p < 0,05$. Выраженные колонизационные характеристики штаммов возбудителя коррелировали с высокой гемолитической активностью ($r = 0,78$). Наличие β -лактамазы и хлорамфениколацетилтрансферазы регистрировалось у всех (100%) культур ЭИЭ 0124 и шигелл Флекснер 2а. 75 (100%) изолятов Флекснер 2а и все 12 (100%) культур ЭИЭ 0124 были устойчивы к пенициллину, ампициллину, хлорамфениколу и 65% изолятов шигелл оказались – резистентны к гентамицину и канамицину, что было связано с широким использованием этих антибиотиков в этиотропной терапии ОКИ.

При I–II типе взаимодействия возбудителя с эпителиальной клеткой у 36,0% (32 реб.) больных с эшерихиозами, обусловленными ЭПЭ (018, 020, 055, 075, 0111), и у 49,4% (44 реб.) пациентов с эшерихиозами, вызванными ЭТЭ (04, 06, 09), выделение штаммов возбудителя в монокультуре колебалось от 41,3% до 48,8%, соответственно. На фоне снижения (КОЕ $4-5 \lg/g$) показателей колонизационной активности *E. coli* (89,4%) и сохранения уровней *B. bifidum* и *Lactobacillus spp.* в пределах нормы (КОЕ $9 \lg/g$), доминирующим микроорганизмом, формирующим ассоциации с патогенными эшерихиями, оказался *S. aureus* с колонизационной активностью, не превышающей $1-3 \lg/g$. Тем не менее, 81,8% культур ЭПЭ и ЭТЭ, выделенные в первые три дня заболевания, характеризовались высоким уровнем гидрофобности ($0,6-0,8$ мл, соответственно), наличием у всех культур фермента лизоцима, в 36,4% случаев – средними и высокими показателями адгезии (СПА $4-5$). В 63,6% случаев штаммы обладали высоким уровнем ДНК-азной активности с зоной утилизации ДНК $2,5 \pm 0,2$ мм и в 45,5% случаев – высоким уровнем АЛА (> 7 мкг), $p < 0,05$.

При сальмонеллезе тифимуриум и иерсиниозе (IV тип взаимодействия возбудителя с кишечным эпителием) практически у всех больных ($98-95,1\%$; $148-94,9\%$, соответственно) в первые три дня заболевания регистрировался дисбактериоз кишечника I-ой степени. Микроструктура просвета толстой кишки характеризовалась снижением до $4-5 \lg/g$ КОЕ общего количества полноценной кишечной палочки, появлением в 11,3% случаев лактозонегативных и неферментирующих *E. coli* и определенных представителей группы УПМ (при сальмонеллезе тифимуриум – *S. aureus*, при иерсиниозной инфекции – *P. vulgaris*) с КОЕ $1-3 \lg/g$, при сохранении уровня анаэробной микрофлоры *B. bifidum* и *Lactobacillus spp.* (КОЕ $9 \lg/g$). Штаммы сальмонелл тифимуриум характеризовались низкими показателями колонизационной активности, но выраженными персистентными свойствами. 57,7% изученных штаммов сальмонелл обладали высоким уровнем ДНК-азной активности (> 2 мм) и 51,4% изолятов – высокими показателями АЛА (> 11 мкг).

Особое место в стратегии оценки условий и факторов, определяющих характер микроэкологических нарушений при ОКИ у детей, занимала ротавирусная инфекция. Поскольку вирусная инфекция, как известно, приводит к появлению «новых» рецепторов на эпителиоцитах для лиганд-рецепторного взаимодействия эпителиальных клеток с микроорганизмом, ротавирусы следует рассматривать в качестве пускового механизма развития бактериального процесса в кишечнике. Следовательно, можно допустить, что высокая адгезивная активность УПМ, обусловленная деструктивными процессами в эпителиоцитах и формированием «новых» дополнительных для УПМ рецепторов, приводила к формированию не только дисбактериоза кишечника III степени (62,8% – 71 реб), но и к развитию смешанных форм ОКИ вирусно-бактериальной природы. Доказательством смешанной природы является регистрируемая нами положительная сероконверсия к аутоштаммам УПМ. При ротавирусной инфекции в первые три дня болезни дисбактериоз кишечника характеризовался резким угнетением (в 91,3% случаев) уровней *B. bifidum* и *Lactobacillus* spp до 5 lg/g КОЕ, в 65,7% – снижением до 3–4 lg/g КОЕ общего количества полноценной кишечной палочки, в 4,8% – появлением лактозонегативных кишечных палочек и высокой колонизацией определенных представителей группы УПМ (*S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*) с доминированием *K. pneumoniae*.

Проведение целенаправленной интенсивной этиотропной терапии с момента поступления пациентов в стационар к 7–10 дням болезни в 96,5% случаев приводит к элиминации возбудителя, создавая селективные преимущества для интенсивной колонизации *S. aureus*, *K. pneumoniae* и *P. vulgaris*, наделенных изначально высокими колонизационными и персистентными характеристиками. Дисбактериоз кишечника III степени при всех ОКИ сохранялся, однако выделение возбудителя в монокультуре при дизентерии Флекснера 2а имело место только в 3,6 ± 1,4% случаев, при эшерихиозах ЭТЭ – в 6,5%, при сальмонеллезе – в 13,6%. Наряду с этим, наблюдалось резкое увеличение КОЕ (от 6 до 8 lg/g) у активно персистирующих в первые дни заболевания *S. aureus*, *K. pneumoniae* и *P. vulgaris*. Колонизационная активность (в 86,4% случаев) полноценной кишечной палочки снижалась до 3 lg/g КОЕ, уровень *B. bifidum* и *Lactobacillus* spp. – до 6–5 lg/g КОЕ.

Высокая степень микроэкологических нарушений (дисбактериоз III степени) обратно коррелировала с низким уровнем (1,8 lg) или отсутствием Ig класса А в копрофильtrate ($r = -0,82$).

При расчете индекса функциональной активности ПЯЛ, равном или больше единицы (≥ 1), имела место утрата резервов связывания эндотоксина ПЯЛ, что коррелировало с тяжестью, длительностью течения инфекционного процесса и развитием микроэкологических нарушений слизистой толстой кишки (дисбактериоз II–III степени), ($r = 0,78$).

З а к л ю ч е н и е . Таким образом, ведущим механизмом в развитии дисбиотических нарушений слизистой толстой кишки при ОКИ у детей является комплекс факторов, включающих клинико-анамнестические характеристики, штаммовые особенности возбудителя и УПМ, степень экспрессии их факторов патогенности, особенности типа взаимодействия возбудителя с эпителиоцитом, низкий уровень Ig А в копрофильtrate и утрата резервов связывания эндотоксина ПЯЛ.

Список литературы

1. Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова Е.А., Воробьев А.А. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1999. – № 1. – С. 66–70.
2. «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ 91500.11.0004–2003, Утвержден приказом министерства здравоохранения РФ № 231 ОТ 09.06.2003).
3. Маянский А.Н. Дисбактериоз: иллюзии и реальность // Педиатрия. – 2000. – № 4. – С. 80–88.
4. Парфенов А.И. Кишечный дисбактериоз // Лечащий врач. – 2001. – № 5–6. – С. 20–25.
5. Шахмарданов М.З., Бондаренко В.М., Лучиев В.И. Дисбактериоз кишечника и специфическая эндотоксинемия у больных шигеллезом Флекснера // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1997. – № 2. – С. 64–66.
6. Кветная А.С., Осипова Г.И., Захарова Е.А., Железова Л.И., Добровольская Е.В. Способы диагностики дизентерии Флекснера у детей, прогнозирование лечения, терапевтическая тактика и диспансеризация: Пособие для врачей. – СПб, 1998. – 29–44.
7. Патент РФ на изобретение «Способ прогнозирования течения ОКИ у детей» / А.С. Кветная, Л.И. Железова; НИИ-ДИ СПб. – № 2004122735\15 (024458) от 27 декабря 2005 г.
8. Simon G.L., Gorbach S.L. Intestinal microflora // Med. Clin. North. Amer. – 1982. – Vol. 66. – P. 567–574.
9. Zubrisky L., Spaulding E. Studies on the stability of the normal human fecal flora // J. Bact. – 1962/ – Vol. 83. – № 4. – P. 968

© Т.И. Григорьева, С.В. Аксенова, А.Г. Захаркин, С.Ю. Пузанов, Е.П. Тюрина, А.Б. Келейников, 2008

© T.I. Grigorieva, S.V. Aksenova, A.G. Zakharkin, S. Yu. Puzanov, E.P. Tyurina, A.V. Keleynikov, 2008

МОДУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ ПРИ ЭНДОТОКСИКОЗЕ

Т.И. Григорьева, С.В. Аксенова, А.Г. Захаркин, С.Ю. Пузанов, Е.П. Тюрина,
А.Б. Келейников

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия

Григорьева Т.И., Аксенова С.В., Захаркин А.Г., Пузанов С.Ю., Тюрина Е.П., Келейников А.Б. Модуляция функциональной активности форменных элементов крови при эндотоксикозе // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 44–48.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации», Россия, г. Саранск.

Резюме: С целью развития выраженного синдрома эндогенной интоксикации животным моделировали острый панкреатит по способу В.М. Буянова с соавт. (1989). Собакам под наркозом выполняли срединную лапаротомию, пунктировали желчный пузырь, забирали желчь, место пункции в последующем лигировали. Для формирования медленно прогрессирующей формы заболевания полученную желчь вводили в паренхиму вертикальной части поджелудочной железы по 0,6 мл в 5 точек.

В послеоперационном периоде проводилась инфузионная терапия (внутривенные введения 5% раствора глюкозы и 0,89% раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного). В опытных группах в комплексном лечении применяли реамберин (15 мл/кг) или 0,9% озонированного изотонического раствора хлорида натрия. Определяли выраженность эндогенной интоксикации в плазме крови, некоторые показатели функционального состояния, липидный состав, интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность фосфолипазы A₂, каталазы и супероксиддисмутазы эритроцитов и тромбоцитов.

Исследования показали, что уже через сутки после моделирования острого панкреатита у животных развивался выраженный синдром эндогенной интоксикации. Анализ полученных результатов показал, что модуляция липидного состава бислоя мембран форменных элементов крови на фоне эндотоксикоза сопровождается их функциональными модификациями. Восстановление липидного обмена биомембран форменных элементов крови на фоне применения реамберина или озонотерапии, вероятно, обуславливало способность препаратов модулировать нарушенное структурно-функциональное состояние форменных элементов крови при эндогенной интоксикации. Следует отметить, что основой липидмодифицирующего действия изученных агентов выступает их способность снижать интенсивность перекисного окисления липидов, активность фосфолипазы A₂, восстанавливая собственный антиоксидантный ферментный потенциал. Наибольшей корректирующей способностью обладает реамберин, положительный эффект которого определяется уже после одной инъекции препарата.

Ключевые слова: острый панкреатит, эндотоксикоз, форменные элементы крови, препараты метаболического действия, липидрегулирующая способность.

Grigorieva T.I., Aksenova S.V., Zakharkin A.G., Puzanov S. Yu., Tyurina E.P., Keleynikov A.V. Blood formed elements functional activity modulation in endotoxycosis // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 44–48.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mordovian N.P. Ogarev University», Saransk

S u m m a r y : To develop marked syndrome of endogenous intoxication in animals acute pancreatitis was produced following Buyanov et al. method (1989). Anesthetized dogs were subjected to midline laparotomy, gall bladder was punctuated, bile was gathered, and the place of puncture was then ligated. To induce slowly progressing form of the disease the obtained bile was introduced into the parenchyma of a vertical part of the pancreas in a dose of 0.6 ml in 5 points.

Infusion therapy was used in the postoperative period (5% glucose solution and 0.89% of sodium chloride for 50 ml/kg animal body weight, intravenously). Reamberin (15 ml/kg) or 0.9% of ozonized isotonic sodium chloride solution was used in a complex treatment of experimental groups. Endogenous intoxication in blood plasma, some parameters of functional state, lipid composition, intensity of peroxide oxidation of lipids (POL), activity of phospholipase A₂, catalase and superoxide dismutase of erythrocytes and platelets were determined.

It was shown that already one day after induction of acute pancreatitis animals developed marked syndrome of endogenous intoxication. The analysis of the results showed that modulation of lipid composition of bilayer of membranes of blood formed elements on the background of endotoxycosis is accompanied by their functional modifications. Restoration of lipid metabolism of biomembranes of blood formed elements on the background of reamberin or ozonotherapy probably caused the ability of the substances to modulate the disturbed structural-functional state of blood formed elements in case of endogenous intoxication. It should be noted that the basis of lipid-modifying effect of the agents studied was their ability to reduce intensity of lipid peroxide oxidation, phospholipase A₂ activity, thus restoring their own antioxidant enzymatic potential. Reamberin revealed the highest correcting activity. Its positive effect becomes evident already one day after the injection of the agent.

K e y w o r d s : of medicines with metabolic action, acute pancreatitis, endotoxycosis, lipid-regulating ability.

Синдром эндогенной интоксикации играет важную роль в патогенезе самых различных заболеваний, определяя их течение и исход. Накопление большого количества токсических продуктов в крови ведет к нарушениям гомеостаза той или иной

интенсивности во всех органах и тканях организма. В последнее время изучению синдрома эндогенной интоксикации, его патогенезу, своевременной диагностике и эффективным методам лечения уделяется большое внимание. Неоспорим тот факт, что система

крови является первым защитным звеном, активно реагирующим на компоненты эндотоксикоза. Большое внимание исследований последних лет привлекает изучение морфофункционального состояния эритроцитов и тромбоцитов при различных патологических состояниях в связи с их способностью адекватно отражать общий статус организма, а, кроме того, с возможностью форменных элементов крови самим выступать в качестве одного из механизмов пролонгирования и прогрессирования патологического процесса. В условиях эндогенной интоксикации в плазме крови накапливаются токсичные субстанции, ускоряются процессы перекисного окисления липидов, что оказывает повреждающее воздействие на биологические мембраны клеток крови (Алмазов В.А. и др., 1992). Не исключено, что одним из важнейших факторов, лежащих в основе нарушения морфофункционального состояния эритроцитов и тромбоцитов является изменение липидной матрицы биологической мембраны. Выявление связи между нарушениями функциональной активности форменных элементов крови и изменением спектра фосфолипидов их биомембран в условиях эндотоксикоза определяет возможность применения векторной патогенетической терапии, способной корригировать дислипидные явления, восстанавливая функциональный статус клеток крови и улучшая течение патологического процесса в целом.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я . Выявление связи между нарушениями функциональной активности форменных элементов крови и изменением спектра фосфолипидов их биомембран в условиях эндотоксикоза.

М а т е р и а л и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . В основу работы положены экспериментальные исследования. С целью развития выраженного синдрома эндогенной интоксикации животным моделировали острый панкреатит по способу В.М. Буянова с соавт. (1989). Собакам под наркозом выполняли срединную лапаротомию, пунктировали желчный пузырь, забирали желчь, место пункции в последующем лигировали. Для формирования медленно прогрессирующей формы заболевания полученную желчь вводили в паренхиму вертикальной части поджелудочной железы по 0,6 мл в 5 точек. В контрольные сроки (1-е, 3-е, 5-е сутки) животным осуществляли забор крови. Все экспериментальные исследования у животных выполнялись под общим обезболиванием. В послеоперационном периоде проводилась инфузионная терапия (внутривенные введения 5% раствора глюкозы и 0,89% раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного). В опытных группах в комплексном лечении применяли реамберин (15 мл/кг) или 0,9% озонированного изотонического раствора хлорида натрия. Определяли выраженность эндогенной интоксикации в плазме крови, некоторые показатели функционального состояния, липидный состав, интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность фосфолипазы

A₂, каталазы и супероксиддисмутаза эритроцитов и тромбоцитов.

Выраженность эндогенной интоксикации оценивали по содержанию молекул средней массы определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-46 при длинах волн 254 и 280 нм; общую и эффективную и концентрацию альбумина в сыворотке крови – флуоресцентным методом на специализированном анализаторе АКЛ-01 «Зонд»; резерв связывания альбумина и индекс токсичности плазмы крови рассчитывали по формулам. Сорбционную способность эритроцитов рассчитывали по формуле по количеству поглощенного красителя. Определение деформальности эритроцитов проводили по отношению времени, необходимого для полного растекания капли 0,2 мл 0,7% раствора человеческого альбумина, ко времени растекания эритроцитарной суспензии. Агрегацию тромбоцитов регистрировали оптическим методом с помощью двулучевого агрегометра THROMLITE 1006 производства СП «БиоХим-Мак», Москва с подключенным самописцем. Липиды из клеток крови экстрагировали хлороформметаноловой смесью, фракционировали методом тонкослойной хроматографии на силикагелевых пластинах. Полярные фосфолипиды разделяли на пластинах фирмы Merk на стеклянной основе, нейтральные липиды фракционировали на силикагелевых пластинах для обращенно-фазной тонкослойной хроматографии. Молекулярный анализ липидов проводили на денситометре Model GS-670 (BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (Phosphor Analyst/PS Sotware). Содержание малонового диальдегида оценивали в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой. Диеновые и триеновые конъюгаты определяли спектрофотометрическим методом по наличию максимумов поглощения при длине волны $\lambda = 232$ нм и $\lambda = 275$ нм соответственно. Активность фосфолипазы A₂ регистрировали по каталитической деятельности фермента титриметрическим методом по мере образования свободных жирных кислот. Активность каталазы определяли фотометрическим методом, основанным на способности перекисей образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс. Активность супероксиддисмутаза определяли по способности фермента тормозить аэробное восстановление нитросинего тетразолия до формазана.

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я и и х о б с у ж д е н и е . Исследования показали, что уже через сутки после моделирования острого панкреатита у животных развивался выраженный синдром эндогенной интоксикации, что было зарегистрировано нами в виде роста гидрофильных и гидрофобных токсических продуктов в крови. Было установлено, что показатели общей и эффективной концентрации альбумина заметно снижались относительно исходных на 13,08–24,66 и 29,99–51,08% ($p < 0,05$) соответственно, что в свою очередь способствовало уменьшению его связывающей способности на 21,33–36,00% ($p < 0,05$) и росту индекса токсичности плазмы

крови на 97,06–214,71% относительно нормы. При изучении содержания среднемолекулярных пептидов в плазме крови ($\lambda = 254$ нм и $\lambda = 280$ нм) было установлено, что последнее превышало исход на 56,97–102,37 и 86,71–109,54% ($p < 0,05$) соответственно, свидетельствуя о накоплении в плазме и гидрофильных маркеров эндотоксикоза. Активность α -амилазы возрастала на 145,72–297,88% ($p < 0,05$).

При остром панкреатите на фоне выраженного синдрома эндогенной интоксикации отмечалось существенное изменение морфофункционального статуса эритроцитов в виде уменьшения эластичности (индекс деформальности снижался на 17,11–26,32%), увеличения жесткости (на 13,85–27,40%) и неспецифической проницаемости их мембран, зафиксированное в виде повышения сорбционной способности на 14,72–29,24% красных клеток крови. Функциональная активность тромбоцитов также существенно изменялась. Было выявлено значительное возрастание агрегационной способности тромбоцитов (степень и скорость агрегации возрастали на 33,49–68,06 и 143,18–329,55% соответственно, время агрегации снижалось на 30,07–36,71%).

При синдроме эндогенной интоксикации нарушение функциональной активности эритроцитов и тромбоцитов находилось в корреляционной связи с модификациями липидного состава их биомембран. Исследования показали, что при эндотоксикозе липидный состав эритроцитов подвергался значительным модификациям. Отмечалось увеличение содержания свободных жирных кислот на 24,21–69,50% ($p < 0,05$), триацилглицеролов и эфиров холестерина на фоне снижения уровня холестерина и суммарных фосфолипидов при значительном росте процента лизоформ (на 102,56–211,11% ($p < 0,05$)) в их составе. Не менее интересные результаты были получены при исследовании липидного метаболизма тромбоцитов. Экспериментально доказано, снижение содержания суммарных фосфолипидов на 14,42–23,18% ($p < 0,05$) биомембран тромбоцитов сопровождалось ростом содержания свободного холестерина и его этерифицированной формы, а также свободных жирных кислот на 52,18–75,49% ($p < 0,05$). Наблюдалось понижение уровня фосфатидилхолина, фосфатидилинозита и фосфатидилсерина.

Дислипидные изменения эритроцитов и тромбоцитов, зафиксированные в эксперименте, указывают на высокую чувствительность клеток крови к токсическому действию продуктов перекисного окисления липидов и активных форм кислорода. Исследования выявили, что в динамике острого панкреатита в эритроцитах и тромбоцитах отмечалась интенсификация процессов перекисного окисления липидов, что было зафиксировано в виде значительного роста уровней первичных и вторичных продуктов ПОЛ на 15,00–111,76 и 61,02–119,64% ($p < 0,05$) соответственно. При эндотоксикозе в клетках крови отмечалась существенная интенсификация активности фосфолипазы A2 на 115,20–465,91% ($p < 0,05$). Интенсификация пе-

рекисного окисления липидов сопровождалась уменьшением активности супероксиддисмутазы на 19,87–48,08% ($p < 0,05$). Подобные изменения коррелировали с выраженностью дислипидных явлений в биомембранах красных клеток крови, что подтверждает значимость описанных процессов в патогенезе расстройств липидного обмена и, как следствие, мембранодеструктивных явлений, лежащих в основе нарушений функциональной активности форменных элементов крови.

Использование реамберина или озонотерапии способствовало снижению выраженности эндогенной интоксикации относительно контрольных данных, что было зафиксировано нами в виде уменьшения концентрации в плазме крови гидрофильных и гидрофобных ее компонентов. Индекс токсичности плазмы на фоне применения реамберина уже с первых суток терапии снижался по сравнению с данными контрольной группы на 11,94–41,12% ($p < 0,05$). При озонотерапии отмечалось уменьшение выраженности эндогенной интоксикации, но положительный эффект лечения начинал проявляться лишь с третьих суток лечения и даже к концу эксперимента ни один из маркеров эндотоксикоза не достигал исходного уровня.

Изучение функциональной активности форменных элементов крови показало, что применение реамберина давало значительный положительный эффект, вплоть до нормализации показателей, в то время как при озонотерапии эффективность была не столь высокой и отмечалась на третьи – пятые сутки лечения. Так, уровни сорбционной способности и жесткости мембран эритроцитов снижались относительно контроля, а индекс деформальности эритроцитов превосходил подобный показатель в контроле на 7,89–19,05% ($p < 0,05$). На фоне применения апробируемых схем терапии было выявлено уменьшение агрегационной способности тромбоцитов, что отмечалось по снижению степени и скорости агрегации тромбоцитов на 10,68–22,99 и 17,23–25,34% ($p < 0,05$) соответственно. Время агрегации, напротив, увеличивалось, превышая контроль (табл. 1).

Экспериментальные исследования показали, что применение реамберина и озонотерапии в лечении острого панкреатита приводит к восстановлению липидного состава биомембран эритроцитов и тромбоцитов, что вероятно, и обуславливает способность данных методов терапии восстанавливать функциональную активность красных клеток крови. Наиболее значимые липидстабилизирующие влияния биоантиоксиданта определяются в существенном уменьшении уровня свободных жирных кислот (на 16,50–61,60%), лизоформ фосфолипидов (на 27,79–56,48%), повышении содержания суммарных фосфолипидов (на 6,46–51,85%), восстановлении состава основных мембранных липидов (фосфатидилхолина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозита, фосфатидилэтаноламина). Эффективность озонотерапии была несколько ниже, проявляясь лишь с третьих суток эксперимента (табл. 2).

Таблица 1

Показатели функционального состояния эритроцитов при остром панкреатите под влиянием реамберина (M ± m)

Показатель	Группа	Исходные данные	Этапы наблюдения (от момента моделирования)		
			1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
Индекс деформальности эритроцитов, усл. ед.	I	0,76 ± 0,03	0,62 ± 0,02*	0,56 ± 0,04*	0,63 ± 0,03*
	II		0,60 ± 0,05*	0,80 ± 0,03	0,75 ± 0,02
Жесткость эритроцитарных мембран, %	I	57,18 ± 1,54	62,13 ± 1,48	72,85 ± 2,12*	65,10 ± 1,42*
	II		59,10 ± 2,01	64,46 ± 1,07*	56,15 ± 1,35
Сорбционная способность эритроцитов, %	I	39,54 ± 0,29	45,36 ± 0,22*	51,10 ± 0,81*	46,51 ± 0,36*
	II		42,03 ± 0,24	43,54 ± 0,42	40,25 ± 0,23

П р и м е ч а н и е . I – контрольная группа; II – опытная группа; * – достоверность по отношению к исходному показателю при $p < 0,05$; жирный шрифт – достоверность разницы между данными контрольной и опытной групп.

Показано, что существенный положительный эффект реамберина был зарегистрирован и при определении выраженности процессов липоперекисления в клетках крови. Установлено, что данная схема лечения приводит к снижению интенсивности процессов перекисного окисления липидов, депрессии активности фосфолипазы A₂ и восстановлению собственного антиоксидантного потенциала

красных клеток крови. Положительный эффект препарата отмечался уже с первых суток его использования. Эффективность другого метода лечения была менее выражена.

З а к л ю ч е н и е . Таким образом, анализ полученных результатов показал, что модуляция липидного состава бислоя мембран форменных элементов крови на фоне эндотоксикоза сопровождается

Таблица 2

Влияние реамберина на липидный спектр биомембран тромбоцитов при остром панкреатите (M ± m)

Показатель	Группа	Исходные данные	Этапы наблюдения (от момента моделирования)		
			1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
Суммарные фосфолипиды, %	I	52,21 ± 2,10	44,68 ± 1,61*	40,11 ± 1,32*	42,46 ± 1,16*
	II		49,86 ± 0,35	47,58 ± 1,41*	47,73 ± 0,10*
Триацилглицериды, %	I	5,93 ± 0,33	6,01 ± 0,29	5,97 ± 0,35	5,82 ± 0,53
	II		5,84 ± 0,65	6,13 ± 0,32	5,84 ± 0,56
Свободные жирные кислоты, %	I	4,12 ± 0,20	6,27 ± 0,31*	7,23 ± 0,38*	6,62 ± 0,34*
	II		5,06 ± 0,25*	5,68 ± 0,19*	5,26 ± 0,20*
Холестерол, %	I	25,13 ± 0,71	27,26 ± 1,75	30,36 ± 1,04*	28,52 ± 0,97*
	II		26,97 ± 1,16	24,99 ± 0,82	25,03 ± 0,28
Эфиры холестерина, %	I	6,79 ± 0,39	8,34 ± 0,37*	9,26 ± 0,41*	8,81 ± 0,40*
	II		7,10 ± 0,42	7,23 ± 0,26	7,86 ± 0,13*
Лизофосфатидилхолин, %	I	1,01 ± 0,06	3,86 ± 0,24*	5,48 ± 0,27*	4,67 ± 0,24*
	II		1,68 ± 0,11*	3,02 ± 0,23*	3,16 ± 0,19*
Сфингомиелин, %	I	23,42 ± 2,39	23,81 ± 1,53	23,34 ± 1,39	22,49 ± 1,86
	II		23,02 ± 1,34	22,91 ± 1,42	23,56 ± 0,38
Фосфатидилхолин, %	I	34,19 ± 1,17	33,14 ± 1,59	30,13 ± 0,68*	32,10 ± 1,73
	II		35,13 ± 1,76	34,26 ± 0,34	34,47 ± 0,57
Фосфатидилсерин, %	I	9,78 ± 0,42	7,02 ± 0,35*	5,36 ± 0,25*	6,48 ± 0,31*
	II		8,37 ± 0,24*	7,92 ± 0,32*	8,42 ± 0,36*
Фосфатидилинозит, %	I	6,93 ± 0,42	5,10 ± 0,26*	4,85 ± 0,21*	5,25 ± 0,28*
	II		5,82 ± 0,10*	5,99 ± 0,10*	7,10 ± 0,30
Фосфатидилэтанолламин, %	I	25,77 ± 1,33	25,98 ± 1,84	28,62 ± 0,51	27,64 ± 1,49
	II		26,14 ± 1,42	27,82 ± 1,21	26,02 ± 1,44

П р и м е ч а н и е . I – контрольная группа; II – опытная группа; * – достоверность по отношению к норме при $p < 0,05$; жирный шрифт – достоверность изменений по отношению к контрольным данным при $p < 0,05$.

ся их функциональными модификациями. Восстановление липидного обмена биомембран форменных элементов крови на фоне применения реамберина или озонотерапии, вероятно, обуславливало способность препаратов модулировать нарушенное структурно-функциональное состояние форменных элементов крови при эндогенной интоксикации. Следует отметить, что основой липидмодифицирующего

действия изученных агентов выступает их способность снижать интенсивность перекисного окисления липидов, активность фосфолипазы A₂, восстанавливая собственный антиоксидантный ферментный потенциал. Наибольшей корригирующей способностью обладает реамберин, положительный эффект которого определяется уже после одной инъекции препарата.

© А.П. Власов, И.В. Меркушкина, О.В. Логинова, Е.П. Тюрина, Т.И. Григорьева, А.П. Есмейкин, О.В. Майдокина, 2008

© A.P. Vlasov, I.V. Merkuschkina, O.V. Loginov, E.P. Tyurina, T.I. Grigorieva, A.P. Esmeykin, O.V. Maydokina, 2008

ЦИТОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПРЕПАРАТОВ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ТИПА ДЕЙСТВИЯ

**А.П. Власов, И.В. Меркушкина, О.В. Логинова, Е.П. Тюрина, Т.И. Григорьева,
А.П. Есмейкин, О.В. Майдокина**

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия

Власов А.П., Меркушкина И.В., Логинова О.В., Тюрина Е.П., Григорьева Т.И., Есмейкин А.П., Майдокина О.В. Цитопротекторный эффект препаратов метаболитического типа действия // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 48–51.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации», Россия, г. Саранск.

Резюме. Экспериментально воспроизведена медленно прогрессирующая форма течения острого панкреатита по В.М. Буянову. В опытных группах животных в комплексную терапию включали лекарственные средства, обладающие антиоксидантным эффектом. Во второй группе в раннем послеоперационном периоде ежедневно производились внутривенные введения 10% раствора аплегина из расчета 10 мг/кг; в третьей – введения раствора реамберина из расчета 15 мл/кг массы тела животного. Исследования показали, что применение антиоксидантных препаратов при остром панкреатите обеспечивает коррекцию функционального состояния эритроцитов и тромбоцитов, корреляционно связанную с мембраностабилизирующим эффектом данных препаратов. Эффективность препаратов в коррекции липидных дестабилизаций и дисфункции эритроцитов и тромбоцитов более выражена при использовании реамберина. С другой стороны, установленный факт, что положительное действие антиоксидантов в коррекции морфофункциональных нарушений эритроцитов и тромбоцитов сопровождается восстановлением их липидного метаболизма при данной патологии, подтверждает значимость последних в патогенезе острого панкреатита.

Ключевые слова: острый панкреатит, препараты метаболитического действия, липидрегулирующая способность.

Vlasov A.P., Merkuschkina I.V., Loginov O. V., Tyurina E.P., Grigorieva T.I., Esmeykin A.P., Maydokina O.V. Cytoprotective effect of medicines with metabolic type of activity // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 48–51.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mordovian N.P. Ogarev University», Saransk

S u m m a r y : Slowly progressing form of acute pancreatitis was reproduced by the method of V.M. Buyanov. Drugs with antioxidant effect were included into complex therapy of experimental animals. The second group of animals was daily intravenously injected with 10% aplegin in a dose of 10 mg/kg body weight in the early postoperative period; the third group received reamberin solution 15 ml/kg body weight. It was shown that in acute pancreatitis antioxidants improve erythrocyte and platelet functional state associated with membrane stabilizing effect of these agents. The efficiency of the drugs in lipid destabilization correction and erythrocyte and platelet dysfunction is more evident with reamberin. On the other hand, the fact that positive action of antioxidants in correction of erythrocyte and platelet morphofunctional disorders is accompanied by restoration of their lipid metabolism in acute pancreatitis confirms the importance of the latter in pathogenesis of this pathology.

K e y w o r d s : of medicines with metabolic action, acute pancreatitis, lipid-regulating ability.

В настоящее время в структуре летальности при острой хирургической патологии органов брюшной полости острый панкреатит занимает ведущую позицию. Основной причиной летальности при остром панкреатите является прогрессирующий эндотоксикоз, приводящий к полиорганной недостаточности. Безусловно, в регулировании течением заболевания возможно использование лечебных пре-

грамм, вектор которых направлен не только на основной очаг болезни, но и органы-мишени, состояние которых определяют степень расстройств гомеостатического процесса. В этой связи чрезвычайно важное место в системе лечебных мероприятий занимает восстановление морфофункционального состояния форменных элементов крови. Между тем до сих пор дей-

твие антиоксидантов на морфофункциональное их состояние при панкреатите изучено неполно. Использование антиоксидантной терапии обусловлено тем, что одним из пусковых механизмов в патогенезе панкреатита являются мембранодестабилизирующие процессы, которые возникают не только в клеточных структурах поджелудочной железы, но и других органах и тканях. Безусловно, важнейшей предпосылкой для такого рода исследований послужили сведения последних лет о важнейшей роли липидных нарушений в патогенезе различных заболеваний (липидный дистресс-синдром Савельева).

Цель исследования – изучение цитопротекторного эффекта препаратов метаболического типа действия при прогрессирующем эндотоксикозе при остром панкреатите.

Материалы и методы исследования. В основу работы положены результаты экспериментальных исследований на взрослых беспородных собаках, которым воспроизводили медленно прогрессирующую форму течения острого экспериментального панкреатита по В.М. Буянову: под тиопентал-натриевым наркозом (0,04 г/кг массы) животным выполняли срединный разрез вентральной стенки брюшной полости, пунктировали желчный пузырь, забирали желчь с последующим лигированием места пункции. Желчь вводили в паренхиму поджелудочной железы по 0,6 мл в 5 точек. В контрольные сроки (1, 3, 5, 7 суток) животным выполняли релапаротомию, биопсию ткани поджелудочной железы, забор крови. В послеоперационном периоде животным проводили инфузионную терапию (внутривенные введения 5% раствора глюкозы и 0,89% раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного). В опытных группах животным в комплексную терапию включали лекарственные средства, обладающие антиоксидантным эффектом. Во второй группе в раннем послеоперационном периоде ежедневно производили внутривенные введения 10% раствора аплегина из расчета 10 мг/кг; в третьей – введения раствора реамберина из расчета 15 мл/кг массы тела животного.

Определяли деформабельность и сорбционную способность эритроцитов. Исследование агрегационной активности тромбоцитов. В качестве индукторов агрегации использовали аденозиндифосфорную кислоту (АДФ) и фосфолипидный фактор активации тромбоцитов (ФАТ), конечная концентрация которых в кювете агрегометра составляла соответственно 20 мкМ и 5 мкМ. Агрегацию тромбоцитов регистрировали оптическим методом с помощью двулучевого агрегометра THROMLITE 1006.

Определяли активность альфа-амилазы, используя метод ферментативного гидролиза крахмала. Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли по уровню диеновых конъюгатов и ТБК-активных продуктов (малонового диальдегида). Активность фосфолипазы A_2 оценивали по каталитической деятельности фермента. Липиды из форменных элементов крови экстрагировали хлороформметано-

ловой смесью. Липиды фракционировали методом тонкослойной хроматографии. Молекулярный их анализ проводили на денситометре Model GS-670 (BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (Phosphor Analyst/PS Software). Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. Исследования показали, что при остром экспериментальном панкреатите функциональная активность эритроцитов и тромбоцитов существенно изменялась. Отмечалось уменьшение эластичности и увеличение неспецифической проницаемости мембран эритроцитов, зафиксированное в виде снижения индекса деформабельности на 14,47–28,95% ($p < 0,05$) и повышения сорбционной способности на 14,11–26,78% ($p < 0,05$) красных клеток крови.

Данные модификации протекали на фоне значительного возрастания агрегационной способности тромбоцитов, характеризующегося увеличением степени и скорости агрегации, укорочением времени агрегационного периода на 32,13–64,88 и 139,39–330,30, 13,38–30,29% ($p < 0,05$) соответственно, что, согласно данным литературы, выступало одним из факторов запуска каскада гемостазиологических реакций, приводящих, в конечном итоге, к гиперкоагуляции, микротромбообразованию, нарушению питания тканей и прогрессированию патологического процесса.

В ходе эксперимента была установлена достоверная корреляционная связь между нарушением функционального состояния форменных элементов крови и интенсификацией свободнорадикальных и ферментативных реакций в липидном матриксе биомембран эритроцитов и тромбоцитов. Выявленные активизация процессов свободнорадикального окисления липидов и повышение ферментативной активности фосфолипазы A_2 клеток крови при моделировании у подопытных животных острого панкреатита подтверждают литературные данные о значимости данных процессов в патогенезе этого заболевания.

Дислипидные изменения эритроцитов, зафиксированные в эксперименте, указывают на высокую чувствительность красных кровяных телец к токсическому действию продуктов перекисного окисления липидов и активных форм кислорода. Нарушение липидного состава биомембран эритроцитов в виде повышения содержания свободных жирных кислот на 20,44–67,92% ($p < 0,05$), эфиров холестерина на 17,81–41,42% ($p < 0,05$), лизофосфолипидов на 81,20–192,31% ($p < 0,05$) при снижении уровней суммарных фосфолипидов на 6,81–10,83% ($p < 0,05$), фосфатидилинозита на 14,80–27,48% ($p < 0,05$) способствует повышению проницаемости мембран, что отмечалось в первой серии опытов в виде роста сорбционной способности эритроцитов.

Исследования показали, что в липидном спектре тромбоцитов на фоне снижения суммарных фосфолипидов на 14,35–22,89% ($p < 0,05$) происходит рост

содержания свободного холестерина и его этерифицированной формы на 11,22 – 19,98 и 21,06 – 34,76% ($p < 0,05$) соответственно, а также свободных жирных кислот на 49,03 – 72,82% ($p < 0,05$). Накопление фосфатидилэтаноламина на 10,75% ($p < 0,05$) сопровождалось понижением уровня фосфатидилинозитола и фосфатидилсерина на 23,95–27,99 и 26,89–42,02% ($p < 0,05$) соответственно. Уменьшение первого сопряжено с накоплением лизоформ фосфолипидов, количество которых возрастало относительно нормы на 275,25–415,84% ($p < 0,05$). Согласно литературным данным, комплекс биохимических изменений в составе липидов лежит в основе роста агрегационной активности тромбоцитов.

Таким образом, результаты контрольного исследования показали значимость глубоких изменений в метаболизме липидов как молекулярной основы патогенеза панкреатита, а также их важнейшую роль в формировании морфофункциональных расстройств форменных элементов крови. Указанные изменения липидного спектра эритроцитов и тромбоцитов можно считать патологическим следствием высокой активности свободнорадикальных процессов и липаз крови, хотя очевидным является формирование «порочных кругов» патогенеза острого воспаления поджелудочной железы.

Ввиду очевидной необходимости поиска новых фармакологических схем терапии в связи с малой эффективностью традиционных препаратов в коррекции нарушений липидного гомеостаза и дисфункции форменных элементов крови при остром панкреатите, было исследовано влияние антиоксидантов на вышеуказанные изменения.

При включении в терапию острого панкреатита аплегина на пятые сутки лечения появилась тенденция к стабилизации патологических дисфункциональных изменений форменных элементов крови, что проявилось относительным повышением индекса деформальности эритроцитов на 25,93% ($p < 0,05$), снижением сорбционной способности эритроцитов на 13,01% ($p < 0,05$), достоверным уменьшением степени и скорости агрегации тромбоцитов на 10,24 и 17,08% соответственно и удлинением времени агрегации тромбоцитов на 20,21% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными показателями. Несмотря на положительную динамику всех исследуемых параметров, они все еще достоверно отличались от первоначальных.

Уменьшение прогрессирования функциональных расстройств эритроцитов и тромбоцитов при использовании аплегина тесно коррелировало со снижением интенсивности процессов ПОЛ и фосфолипазной активности форменных элементов крови, а также со снижением выраженности воспалительного процесса в органе в целом. Существенный положительный эффект препарата проявлялся на 3–5 сутки терапии, когда уровни первичных и вторичных продуктов ПОЛ, фосфолипазной активности тромбоцитов были ниже контрольных на 17,65–18,57 и 18,66–20,73, 14,63–17,32% ($p < 0,05$) соответственно.

На фоне аплегиотерапии динамика данных показателей в эритроцитах также носила положительную направленность – содержание малонового диальдегида и показатель фосфолипазной активности были ниже контроля на 17,11–21,93 и 57,58–68,13% ($p < 0,05$) соответственно.

Снижение прогрессирования патологического процесса на фоне применения аплегина в виде замедления интенсификации ПОЛ и активации фосфолипазы А2 сопровождалось положительной динамикой состояния липидного метаболизма. Выявленные изменения начинали проявляться с третьих суток терапии и достигали максимума к пятым, когда положительное влияние препарата стало более очевидным.

При исследовании влияния реамберина на показатели функционального состояния форменных элементов крови при остром экспериментальном панкреатите выявлена тенденция к восстановлению функциональной активности эритроцитов и тромбоцитов уже с первых суток применения. Было установлено снижение сорбционной способности эритроцитов на 4,70–18,18% ($p < 0,05$) и увеличение индекса деформальности красных кровяных телец на 27,78% ($p < 0,05$) относительно контрольного уровня.

Зафиксировано снижение агрегационной способности тромбоцитов в виде уменьшения степени и скорости агрегации тромбоцитов на 11,07–15,26 и 17,53–23,24% ($p < 0,05$) соответственно и удлинения времени агрегации на 15,20–33,33% ($p < 0,05$) относительно контроля (рис. 1). Максимальный эффект данного препарата отмечался после пятой инъекции реамберина.

Применение реамберина способствовало снижению интенсивности ПОЛ, уменьшению фосфолипазной активности и повышению антиоксидантной энзимной защиты эритроцитов и тромбоцитов, причем прослеживалась достоверная корреляционная связь между этими процессами и морфофункциональным состоянием клеток крови при остром панкреатите. Уже с первых суток терапии содержание малонового

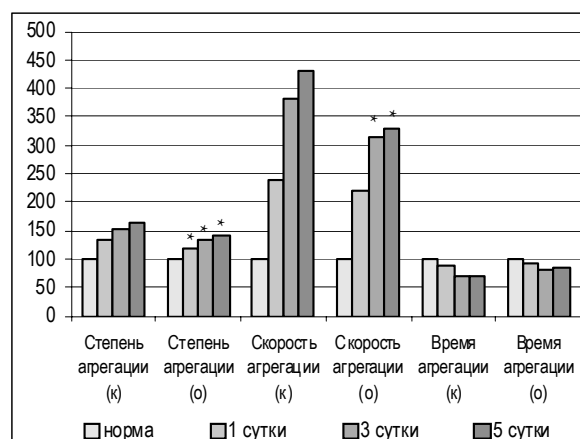


Рис. 1. Функциональная активность тромбоцитов при остром панкреатите на фоне реамберинотерапии

* – достоверность отличия по отношению к контролю при $p < 0,05$

диальдегида, индуцированного малонового диальдегида и активность фосфолипазы A_2 эритроцитов было ниже контроля на 18,76, 25,98 и 66,48% ($p < 0,05$) соответственно.

Показатели малонового диальдегида и индуцированного МДА тромбоцитов на первые и третьи сутки были ниже контроля на 26,45 и 17,65, 26,53 и 19,33% ($p < 0,05$) соответственно. Активность тромбоцитарной фосфолипазы A_2 падала, ее показатель был ниже контроля на 33,49 и 24,05% ($p < 0,05$) соответственно на первые и третьи сутки динамического наблюдения.

Реамберин обладает выраженным антиоксидантным и антигипоксическим действием, оказывая положительный эффект на аэробные биохимические процессы в клетке в период гипоксии, уменьшая продукцию свободных радикалов и восстанавливая энергетический потенциал клетки. Способность препарата снижать интенсивность ПОЛ и активность фосфолипазы A_2 форменных элементов крови, способствующая появлению тенденции к нормализации их функционального состояния и снижению воспалительного процесса в органе поражения, лежит в основе его мембраностабилизирующего эффекта.

На фоне его применения наблюдалось снижение интенсивности прогрессирования дислипидных расстройств клеточных структур тромбоцитов и эритроцитов. Положительный эффект препарата достигал максимума после пятой инъекции реамберина, когда уровни эфиров холестерина, триацилглицеролов, свободных жирных кислот и лизофосфолипидов эритроцитов снижались относительно контроля на 20,02,

15,71, 22,66 и 30,41% ($p < 0,05$) соответственно. Удельный вес фосфатидилсерина и сфингомиелина был ниже контрольных данных на 33,96 и 17,70% ($p < 0,05$) и достоверно от исхода не отличался. Содержание суммарных фосфолипидов, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилинозита и фосфатидилхолина достоверно превышало контрольные данные на 9,70, 13,45, 34,69 и 10,80% соответственно (рис. 2).

Липидный состав тромбоцитов был также подвержен положительному действию реамберина. На пятые сутки эксперимента уровни холестерина и его эфиров, свободных жирных кислот и лизофосфолипидов снижались относительно контроля на 10,35 и 14,10, 26,12 и 39,35% ($p < 0,05$) соответственно, превосходя первоначальные на 7,65 и 15,76, 27,67 и 212,87% ($p < 0,05$) соответственно. Удельный вес фосфатидилэтаноламина был ниже контрольных данных на 7,11% ($p < 0,05$) и достоверно от исхода не отличался. Содержание суммарных фосфолипидов, фосфатидилсерина, фосфатидилинозита и фосфатидилхолина достоверно превышало контрольные данные на 13,59, 22,22, 23,45 и 11,05% соответственно, хотя показатели суммарных фосфолипидов, фосфатидилсерина и фосфатидилинозита все еще были ниже нормы. Уровни сфингомиелина и триацилглицеролов на данном этапе динамического наблюдения были сопоставимы с нормой

З а к л ю ч е н и е . На основании проведенного анализа полученных результатов можно подвести итог, что применение антиоксидантных препаратов при остром панкреатите обеспечивает коррекцию функционального состояния эритроцитов и тромбоцитов, корреляционно связанную с мембраностабилизирующим эффектом данных препаратов. Возможным механизмом реализации положительного действия антиоксидантов выступает способность исследованных препаратов уменьшать интенсивность процессов перекисного окисления липидов и активность фосфолипазы A_2 , в том числе и в форменных элементах крови. Исследования показали, что эффективность препаратов в коррекции липидных дестабилизаций и дисфункции эритроцитов и тромбоцитов более выражена при использовании реамберина. С другой стороны, установленный факт, что положительное действие антиоксидантов в коррекции морфофункциональных нарушений эритроцитов и тромбоцитов сопровождается восстановлением их липидного метаболизма при данной патологии, подтверждает значимость последних в патогенезе острого панкреатита.

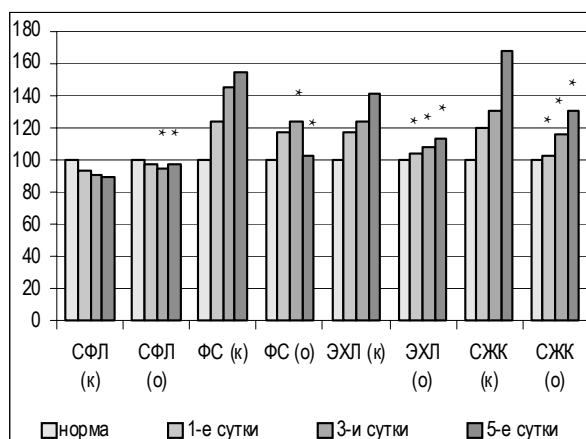


Рис. 2. Состав липидов эритроцитов при остром панкреатите на фоне терапии реамберином

* – изменение показателей достоверно относительно контроля

© Т.И. Григорьева, 2008

© T.I. Grigorieva, 2008

РОЛЬ ЛИПИДМОДИФИЦИРУЮЩЕГОСЯ КОМПОНЕНТА БИОМЕМБРАН В ПРОТИВОПАНКРЕАТИЧЕСКОМ ЭФФЕКТЕ ПРЕПАРАТОВ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ТИПА ДЕЙСТВИЯ

Т.И. Григорьева*Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия*

Григорьева Т.И. Роль липидмодифицирующегося компонента биомембран в противопанкреатическом эффекте препаратов метаболитического действия // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 52–57.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации», Россия, г. Саранск.

Резюме: В статье представлено сравнительное влияние препаратов метаболитического действия (альфа-токоферола ацетата, димефосфона, эмоксилина, мексидола, реамберина, цитофлавина) на фосфолипидную фазу мембран клеточных структур поджелудочной железы, печени, кишечника в эксперименте на модели острого панкреатита. У экспериментальных животных воспроизводилась медленно прогрессирующая форма острого панкреатита, что приводило к развитию воспалительного процесса (отек, гиперемия паренхимы поджелудочной железы). У 12 животных наблюдали развитие деструктивной формы панкреатита. Препараты метаболитического действия позволили значительно улучшить состояние животных (наблюдается минимизация синдрома воспаления в структурах поджелудочной железы, печени и кишечнике (снижить летальность)). Метаболические препараты также способствовали восстановлению функциональной активности печени. Показано, что при остром панкреатите развитие воспалительного процесса тесно сопряжено с липидными дестабилизациями его тканевых структур. Цитофлавин уже с первых суток снижал уровень свободных жирных кислот, фосфолипидов, восстанавливался состав мембранных липидов. В основе высокого липидомодифицирующего эффекта (реамберина и цитофлавина) лежит их способность снижать выраженность основных мембранодестабилизирующих факторов. Реамберин существенно снижает процессы перекисного окисления липидов, активность фосфолипазы А2, восстанавливает антиоксидантный ферментный потенциал поджелудочной железы, в структурах печени и кишечника.

Показано, что к патогенезу острого панкреатита причастны расстройства липидного обмена в органе поражения и на организменном уровне в целом. Терапевтическая эффективность выглядит следующим образом, эффект был выше у тех препаратов, у которых наиболее высокая липидрегулирующая способность (цитоплавин > реамберин > мексидол = эмоксипин > димефосфон > альфа-токоферола ацетат). Эффективность и время наступления эффектов препаратов метаболитического действия коррелирует ($r = 0.67-1.0$) с их способностью корректировать липидный метаболизм изученных тканевых структур.

Ключевые слова: острый панкреатит, препараты метаболитического действия, липидрегулирующая способность.

Grigorieva T.I. The role of lipidmodifying mebrane component in antipancreatic effect of medicines with metabolic activity // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 52–57.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mordovian N.P. Ogarev University», Saransk

Summary: The article is devoted to the comparative influence of medicines with metabolic action (acetate alpha tocopherol, dimephosphon, emoxipin, mexidol, reamberin, cytoflavin) on the phospholipid phase of the membranes of cellular structures of pancreas, liver, intestine studied in the experiment on the model of acute pancreatitis. Slowly progressing form of the disease was reproduced in experimental animals. It caused inflammatory process (edema, hyperemia of pancreatic parenchyma). In 12 animals destructive form of pancreatitis developed. Medicines with metabolic action significantly improved animals condition (minimization of inflammation syndrome in the structure of the pancreas, liver and intestine was observed); lethality decreased. Metabolic preparations also promoted restoration of the liver functional activity. It was shown, that in acute pancreatitis development of inflammatory process is closely connected with lipid destabilization of its tissue structures. Beginning from the first days cytoflavin reduced the level of free fatty acids, phosphotides; the structure of membrane lipids was restored. Ability to reduce manifestation of the main membrane destabilizing factors serves the basis for their high lipid-modifying effect (reamberin and cytoflavin). Reamberin significantly decreases the processes of lipid peroxide oxidation, phospholipase A2 activity, restores antioxidant enzyme potential of the pancreas in the liver and intestinal structures.

Pathogenesis of acute pancreatitis was shown to be connected with the disorders of lipid metabolism in the affected organ and organism as a whole. Therapeutic efficiency seems to be the following, the effect was higher in those preparations which had the highest lipid-regulating ability (Cytoflavinum > Reamberin > Mexidol = Emoxin > Dimephosphon > alpha tocopherol acetate). Efficiency and time of activity of preparations with metabolic action correlates ($r = 0.67-1.0$) with their ability to correct lipid metabolism of the studied tissue structures.

Key words: of medicines with metabolic action, acute pancreatitis, lipid-regulating ability.

Одной из наиболее актуальных проблем современной медицины остается проблема терапии острого панкреатита. Несмотря на совершенствование методов лечения острого воспаления поджелудочной железы, расширение возможностей лекарственной терапии с использованием консервативных, эндоскопических методов лечения, эфферентных способов борьбы с эндотоксикозом, антибакте-

риальной терапии и техники оперативного вмешательства, летальность при остром панкреатите сохраняется на достаточно высоком уровне. При развитии острого панкреатита наблюдается поражение не только самой поджелудочной железы, но и других органов. Внеорганные осложнения, в свою очередь, представлены нарушением функций сердечно-сосудистой системы, легких, печени и почек и являются

существенной проблемой, в большинстве случаев выступая причиной летальных исходов. Недостаточная эффективность современных методов лечения панкреатита побуждает к поиску новых путей терапии этой тяжелой хирургической патологии. Неотъемлемой частью лечения больных острым панкреатитом должно являться знание патогенетических механизмов развития заболевания и его осложнений. В настоящее время большое значение в патогенезе острого панкреатита отводится нарушениям липидного метаболизма. Липидам отводится важнейшая роль в функционировании живых структур. При нарушении их обмена происходят изменения мембранных липидов, что, в свою очередь, приводит к модификации клеточных и органных функций, характер которых начинает определять характер течения патологического процесса. Отсюда со всей очевидностью определяется вывод, что регуляция патологических явлений при остром панкреатите возможна путем применения фармакологических препаратов, способных позитивно влиять на липидмодифицирующийся компонент биомембран субклеточных структур и клеток в целом. Это позволит восстановить их морфофункциональное состояние, что внесет свой «вклад» в повышение эффективности лечения острого панкреатита.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – изучить в эксперименте, на модели острого панкреатита, влияние препаратов метаболического типа действия (альфа-токоферола ацетата, димефосфона, эмоксипина, мексидола, реамберина, цитофлавина) на фосфолипидную фазу мембран клеточных структур поджелудочной железы, печени, кишечника. На основе корреляционного анализа полученных данных и клинико-лабораторных показателей оценить сопряженность эффективности противопанкреатического действия лекарственных средств с их способностью модифицировать липидный компонент биомембран исследованных тканевых структур.

М а т е р и а л и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я. В основу работы положены экспериментальные исследования на 72 взрослых беспородных собаках. Острый панкреатит моделировали по способу В.М. Буянова с соавт. (1989). Собакам под тиопентал-натриевым наркозом (0,04 г/кг массы) выполняли срединную лапаротомию, пунктировали желчный пузырь, забирали желчь с последующим лигированием места пункции. Затем желчь вводили в паренхиму вертикальной части поджелудочной железы по 0,6 мл в 5 точек. В контрольные сроки (1, 3, 5 суток) животным производили релапаротомию, биопсию тканей поджелудочной железы, печени и кишечника, осуществляли забор крови. В послеоперационном периоде проводилась инфузионная терапия (внутривенные введения 5% раствора глюкозы и 0,89% раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного). В опытных группах животным в терапию включали лекарственные средства метаболического типа действия: во второй – ежедневно выполняли внутримышечные инъекции 10% раствора α -токоферола ацета-

та в масле (5 мг/кг массы); в третьей – внутривенные введения 15% раствора димефосфона (50 мг/кг массы); в четвертой – внутривенные инъекции 5% раствора мексидола (10 мг/кг массы); в пятой – внутривенные инъекции 1% раствора эмоксипина (10 мг/кг массы); в шестой – внутривенные инъекции раствора реамберина (15 мл/кг массы); в седьмой – внутривенные инъекции раствора цитофлавина (0,2 мл/кг массы).

Липиды из тканей поджелудочной железы, печени, кишечника экстрагировали хлороформметаноловой смесью (Хиггинс Дж. А., 1990), фракционировали методом тонкослойной хроматографии на силикагелевых пластинах. Количественное определение липидов проводили путем молекулярного анализа на денситометре Model GS-670 (BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (Phosphor Analyst/PS Software). Показатели интенсивности ПОЛ: диеновые конъюгаты определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 232–233 и 275 нм (Ганстон Ф.Д., 1986). Уровень спонтанного и Fe-индуцированного малонового диальдегида – спектрофотометрическим методом в реакции с тиобарбитуровой кислотой (Sigma), антиокислительную активность липидов оценивали в модельных условиях с использованием в качестве прооксиданта сульфат железа в концентрации 5 мкмоль. (Егоров Д.Ю., Козлов А.В., 1988); активность фосфолипазы А2 исследовали в среде, содержащей 10 ммоль трис-HCl-буфер (pH 8,0), 150 ммоль тритон X-100, 10 ммоль CaCl₂ и субстрат (1,2 ммоль), в качестве субстрата использовали фосфатидилхолины яичного желтка, регистрацию каталитической деятельности фермента проводили по мере образования свободных жирных кислот, определяемых потенциометрическим методом; активность каталазы исследовали спектрофотометрическим методом, основанным на способности перекисей образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс (Королюк М.А., 1988); активность супероксиддисмутазы оценивали в реакции с нитросиним тетразолием (Гуревич В.С. и др., 1990). Определяли активность альфа-амилазы, используя метод ферментативного гидролиза крахмала. Выраженность эндогенной интоксикации оценивали по содержанию молекул средней массы (Пикуза О.И., Шакирова Л.З., 1994). Общую и эффективную и концентрацию альбумина в сыворотке крови – флуоресцентным методом на специализированном анализаторе АКЛ-01 «Зонд» (Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е., 1994); резерв связывания альбумина определяли по формуле $РСА = ЭКА/ОКА$ (Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е., 1994); индекс токсичности плазмы – по формуле $ИТ = ОКА/ЭКА-1$ (Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е., 1994). Определение вено-венозного градиента проводили по методу Лендиса: изменение гистогематической проницаемости регистрировалось по капиллярной фильтрации и потере белка. Регистрацию окислительно-восстановительного потенциала (редокс – потенциала, ОВП) для изучения электрогенеза тканей осуществляли на универсальном ионметре ЭВ-74.

Установление коэффициента диффузии кислорода в тканях проводили на основе уравнения И.М. Эпштейна. Функциональную активность печени оценивали по детоксикационной, липидрегулирующей способности, а также по рутинным показателям: активности АСТ и АЛТ, содержанию билирубина и креатинина в плазме крови. Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. Моделирование медленно прогрессирующей формы острого панкреатита по указанному способу приводило к развитию воспалительного процесса в поджелудочной железе уже на следующие сутки. У животных в большинстве случаев развивалась отечная форма острого панкреатита и при релапаротомии были зарегистрированы отек и гиперемия паренхимы поджелудочной железы. На фоне отека определялись участки кровоизлияний. При остром панкреатите отмечались существенные патологические макроскопические явления в печени и кишечнике. В некоторых случаях мы отмечали развитие деструктивной формы острого панкреатита с формированием панкреонекроза, что приводило к гибели животных: в контрольной группе ($n = 12$) погибло 4 собаки.

Применение препаратов метаболического типа действия в терапии острого панкреатита позволило значительно улучшить состояние подопытных животных и привело к снижению случаев трансформации отечной формы заболевания в деструктивную, а следовательно, к уменьшению летальности животных. Так, при использовании альфа-токоферола ацетата погибли три собаки; димефосфона – две собаки; мексидола, эмоксипина, реамберина или цитофлавина – по одной собаке. Положительный эффект исследованных лекарственных средств зарегистрирован и при макро и микроскопии: явления воспаления в тканевых структурах поджелудочной железы, а также в печени и кишечнике по сравнению с контролем были выражены в значительно меньшей степени.

Исследования показали, что при остром панкреатите развивался выраженный синдром эндогенной интоксикации, о чем свидетельствовало прогрессивное увеличение содержания его гидрофильных и гидрофобных компонентов в плазме крови, причем количество токсических продуктов достигало максимума на третьи сутки развития отечной формы острого панкреатита, что сопоставимо с выраженностью воспалительного процесса в поджелудочной железе.

Экспериментально установлено, что уже на первые сутки применения реамберина в терапии острого панкреатита в плазме крови снижалось содержание молекул средней массы относительно контроля на 22,46% ($p < 0,05$), индекс токсичности плазмы также был ниже контрольного показателя на 29,75% ($p < 0,05$), возростала эффективная концентрация альбумина на 16,20% ($p < 0,05$) относительно контроля. На последующих этапах наблюдения детоксика-

ционный эффект препарата продолжал прогрессировать. Применение цитофлавина, мексидола и эмоксипина давало сходные результаты, хотя выявленные изменения маркеров эндотоксикоза на фоне цитофлавинотерапии были несколько больше. При использовании димефосфона положительный детоксикационный эффект начинал проявляться с первых-третьих суток терапии, альфа-токоферола ацетата – с третьих-пятых.

Известно, что при выраженном эндотоксикозе, который сопутствует острому панкреатиту, возможности естественных механизмов детоксикации, включающих монооксигеназную детоксицирующую систему печени, иммунную и выделительные системы, значительно ограничены. Под воздействием эндотоксинов происходит срыв компенсаторных адаптационных механизмов, что неизбежно приводит к печеночной дисфункции. Так, при исследовании содержания некоторых биохимических показателей крови при остром панкреатите выявило снижение функционального потенциала печени и нарушение микроструктуры органа. Применение изучаемых лекарственных препаратов способствовало восстановлению функционального потенциала печени. Так, снижение содержания неутрализованных продуктов в плазме крови на фоне терапии острого панкреатита мексидолом является фактическим доказательством восстановления метаболизма данных веществ в печени. Кроме того, применение апробируемого препарата приводило к нормализации пигментрегулирующей функции печени, что проявилось снижением концентрации общего билирубина в плазме крови на 9,75–12,32% ($p < 0,05$). Уменьшение активности в крови печеночных ферментов: аланин- и аспартатаминотрансферазы на 12,39–16,28% ($p < 0,05$) можно расценивать как снижение интенсивности воспалительных и цитолитических процессов в печени, что свидетельствует о значительном гепатопротекторном эффекте препарата. Важно отметить, что положительное действие мексидола, цитофлавина, реамберина и эмоксипина было зафиксировано уже с первых суток применения препаратов в терапии острого панкреатита, а димефосфона и альфа-токоферола ацетата – с третьих.

Ряд исследователей отмечает, что кишечник одним из первых реагирует на расстройства гомеостаза поджелудочной железы, поскольку развивается с ними в тесной эмбриологической связи. Изучение функционального статуса кишечника показало, что при остром панкреатите развивается функциональная недостаточность органа, проявляясь нарушениями трофики и электрогенеза тканей исследуемого органа. Были зафиксированы достоверное падение окислительно-восстановительного потенциала, снижение коэффициента диффузии кислорода на фоне повышения проницаемости ткани кишечника для белка и воды.

При включении препаратов метаболического типа действия в терапию острого панкреатита отечной формы отмечалась быстрая коррекция выраженных

нарушений трофики и электрогенеза тканей кишечника. Исследования показали коррекцию выраженных нарушений трофики и электрогенеза тканей кишечника уже с первых суток применения эмоксипина, что выражалось ростом окислительно-восстановительного потенциала на 17,93–19,88% ($p < 0,05$), коэффициента диффузии кислорода – на 29,09–29,82% ($p < 0,05$), снижением повышенной в условиях патологического процесса проницаемости исследуемой ткани для белка и воды относительно данных контрольной группы. В дальнейшем положительная динамика изученных показателей на фоне применения препарата сохранялась. Применение цитофлавина, реамберина и мексидола давало во многом аналогичный, но несколько более выраженный лечебный эффект. Эффективность димефосфона и альфа-токоферола ацетата была ниже.

Необходимо отметить, что изменение макроскопической картины и функционального статуса поджелудочной железы, печени и кишечника при остром панкреатите явилось отражением модификаций микроструктуры тканевых компонентов органов.

Исследованиями установлено, что при остром панкреатите развитие воспалительного процесса в органе было тесно сопряжено с липидными дестабилизациями биомембран его тканевых структур. В ткани поджелудочной железы существенно снижалось содержание суммарных фосфолипидов, а в их составе – фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина. Содержание моноацилглицеролов, диацилглицеролов и эфиров холестерина возрастало. Отмечалось увеличение содержания свободных жирных кислот и лизофосфолипидов на 43,67–140,66 и 474,17–1065,00% ($p < 0,05$) соответственно, обладающих, как известно, выраженными детергентными свойствами, являясь одним из существенных мембранодестабилизирующих факторов, обуславливающих прогрессирование патологического процесса в органе. Применение цитофлавина в терапии острого панкреатита уже с первых суток оказывало благотворное влияние на качественный состав липидов ткани поджелудочной железы. В динамике заболевания на фоне терапии отмечалось существенное уменьшение (на 19,24–63,28%) уровня свободных жирных кислот, лизоформ фосфолипидов (на 30,25–52,48%), повышении содержания (на 6,46–51,85%) суммарных фосфолипидов, восстановлении состава основных мембранных липидов (фосфатидилхолина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозита, фосфатидилэтаноламина). Применение других препаратов метаболического типа действия также показало высокую активность по модификации липидного компонента биомембран клеток поджелудочной железы, хотя выраженность терапевтического действия была различной.

Изучение липидного спектра биомембран тканевых структур печени и кишечника выявили значительные его изменения при остром панкреатите в виде увеличения содержания ацилглицеролов, свободных жирных кислот, лизофосфолипидов при сниже-

нии удельного веса суммарных фосфолипидов. Применение препаратов метаболического типа действия в комплексной терапии острого панкреатита способствовало ограничению расстройств липидного обмена в тканях печени, что проявлялось более быстрой нормализацией как количественного, так и качественного состава липидов в тканях исследуемого органа. Так, на третьи сутки димефосфонотерапии содержание суммарных фосфолипидов, холестерина и диацилглицеролов превышало контроль на 11,32, 19,88 и 25,60% ($p < 0,05$) соответственно, причем показатели суммарных фосфолипидов и холестерина достоверно от нормы не отличались. Уровень свободных жирных кислот и эфиров холестерина после третьей инъекции апробируемого препарата были достоверно ниже контроля на 25,92 и 24,65% ($p < 0,05$) соответственно. Динамика фосфолипидного спектра на фоне применения димефосфона была такова: удельный вес лизофосфолипидов, фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина снижался, а содержание сфингомиелина и фосфатидилхолина возрастало по сравнению с контролем. Выявлено, что на третьи сутки применения альфа-токоферола ацетата в терапии острого панкреатита показатель моноацилглицеролов уменьшался относительно контроля на 23,42% ($p < 0,05$). Уровень свободных жирных кислот на третьи сутки эксперимента на данном этапе динамического наблюдения достигал исходных цифр, достоверно снижаясь относительно контрольных данных на 15,84% ($p < 0,05$). Содержание суммарных фосфолипидов возрастало относительно контроля на 37,07% ($p < 0,05$) и достоверных отличий от нормы не имело. При исследовании качественного состава фосфолипидов ткани кишечника на третьи сутки терапии альфа-токоферола ацетатом было обнаружено, что удельный вес фракции фосфатидилсерина возрастал относительно контроля на 27,97% ($p < 0,05$), причем данный показатель достоверных отличий от нормы не имел. Содержание лизофосфолипидов снижалось по сравнению с контрольными данными на 16,56% ($p < 0,05$). На фоне применения цитофлавина, реамберина, мексидола или эмоксипина положительный липидмодифицирующий эффект был значительно выше (особенно у цитофлавина и реамберина) и проявлялся уже с первых суток терапии. Восстановление липидного состава биомембран гепатоцитов и энтероцитов, на фоне метаболической терапии, коррелировало с улучшением функциональной активности печени и кишечника, снижением выраженности эндотоксикоза, указывая на важную роль липидмодифицирующегося компонента биомембран клеточных структур при остром панкреатите.

В основе высокого липидмодифицирующего эффекта изучаемых препаратов лежит их способность снижать выраженность основных мембранодестабилизирующих факторов, которые значительно активизируются при остром панкреатите. Исследования показали, что реамберинотерапия острого панкреатита существенно снижает интенсивность процессов пере-

кисного окисления липидов и активность фосфолипазы A_2 на 29,29–35,59 и 23,25–64,59% ($p < 0,05$) соответственно относительно контроля, а также восстанавливает антиоксидантный ферментный потенциал поджелудочной железы.

Было выявлено, что коррекция интенсивности перекисного окисления липидов и активности фосфолипазы A_2 , а также супероксиддисмутазной активности на фоне применения препаратов метаболического типа действия отмечается и в тканевых структурах печени и кишечника. Следует отметить, что наибольшая эффективность была зарегистрирована при использовании цитофлавина, наименьшая – альфа-токоферола ацетата.

Анализируя полученные результаты, следует отметить, что применение препаратов метаболического типа действия (альфа-токоферола ацетата, димефосфона, эмоксипина, мексидола, реамберина и цитофлавина) показало их высокую эффективность при остром панкреатите. На первые-третьи сутки терапии начиналось снижение воспалительного процесса в органе, сопровождаясь уменьшением летальности животных и было сопряжено с восстановлением липидного метаболизма в клеточных структурах поджелудочной железы ($r = 0,67-1,0$). Кроме того, важную роль в лечебное действие препаратов вносит их органотропный эффект (основа превентивной терапии нарушений гомеостаза при развитии полиорганной недостаточности), реализация которого определялась способностью препаратов купировать расстройства липидного метаболизма на организменном уровне.

Установлено, что выраженное влияние препаратов метаболического типа действия на липидмодифицирующий компонент биомембран проявлялось в восстановлении липидного состава клеточных структур поджелудочной железы. Указанные изменения отчасти определялись способностью препаратов снижать интенсивность процессов перекисного окисления липидов и активность фосфолипазы A_2 , обуславливая их антиоксидантный эффект. Очевидна и важная роль структурного антиоксидантного эффекта, который проявляется при восстановлении липидного состава тканевых структур органа, в мембраностабилизирующем действии изучаемых препаратов, что сопровождалось существенной положительной динамикой купирования воспалительного процесса в органе.

Липидмодифицирующий эффект препаратов проявлялся и на организменном уровне. Это было зафиксировано нами при изучении липидного обмена тканевых структур печени и кишечника. Доказано, что восстановление липидного обмена биомембран клеточных структур различных органов на фоне применения препаратов обуславливало их способность модулировать нарушенное структурно-функциональное состояние органов при остром панкреатите. Восстановление функциональной активности кишечника и печени определило способность препаратов метаболического типа действия снижать интенсивность интоксикационного синдрома при остром панкреатите.

Особо следует выделить важную роль гепатопротекторного эффекта препаратов к купированию синдрома эндогенной интоксикации, что связано не только с восстановлением способности гепатоцитов инактивировать токсические продукты и синтезировать альбумины, но и с коррекцией липидрегулирующей функции печени.

Представленные данные позволяют еще раз выделить, что к патогенезу острого панкреатита причастны расстройства липидного обмена не только на органном (в органе поражения) уровне, но и организма в целом, затрагивающие фосфолипидную фазу биомембран клеточных структур с развитием значительных ее модификаций. Достоверным подтверждением этого факта могут служить результаты лечения отдельными препаратами: терапевтический эффект был существенно выше у тех, у которых отмечена наиболее высокая липидрегулирующая способность (данный эффект убывает в ряду цитофлавин > реамберин > мексидол = эмоксипин > димефосфон > альфа-токоферола ацетат).

З а к л ю ч е н и е . Таким образом, способность препаратов метаболического типа действия корректировать системный липидный дистресс-синдром лежит в основе экспериментально выявленных механизмов их противопанкреатического действия, что подтверждает важнейшую роль липидмодифицирующегося компонента биомембран клеточных структур на фоне метаболической терапии в купировании острого воспаления поджелудочной железы.

В ы в о д ы

1. При остром панкреатите в клеточных структурах органа-поражения поджелудочной железы, а также органах-мишенях печени и кишечнике возникают существенные нарушения липидного метаболизма (системный липидный дистресс-синдром). Количественные и качественные изменения состава липидов исследованных тканевых структур, как проявление деструкции фосфолипидного бислоя мембран, обладают высокой реактивностью.

2. Препараты метаболического типа действия (цитоплавин, реамберин, мексидол, эмоксипин, димефосфон и альфа-токоферола ацетат) обладают способностью корректировать системный липидный дистресс-синдром при остром панкреатите путем значительного положительного влияния на липидмодифицирующийся компонент биомембран клеточных структур исследованных органов, что определяет высокий мембрано- и органопротекторный эффект препаратов.

3. Быстрое «включение» липидмодифицирующегося компонента биомембран на фоне применения препаратов метаболического типа действия реализуется через их способность корректировать интенсивность основных мембранодестабилизирующих факторов путем угнетения процессов ПОЛ и активности фосфолипазы A_2 , а также восстановление собственно его антиоксидантного потенциала тканей кишечника.

4. Мембранстабилизирующая способность лекарственных средств метаболического типа действия,

обусловленная восстановлением липидмодифицирующего компонента биомембран, позволяет уменьшить дисфункциональные явления со стороны исследованных органов при остром панкреатите, что обуславливает снижение выраженности синдрома эндотоксикации, предотвращая прогрессирование воспалительных явлений и повышая выживаемость подопытных животных.

5. Эффективность и время наступления эффектов препаратов метаболического типа действия, коррелирует с их способностью корректировать липидный метаболизм исследованных тканевых структур ($r = 0,67-1,0$), что доказывает чрезвычайную важность липидмодифицирующего компонента биомембран в противопанкреатическом действии исследованных лекарственных средств.

© А.И. Макаров¹, Л.К. Добродеева², А.Б. Гудков¹, В.А. Штаборов², 2008

© A.I. Makarov¹, L.K. Dobrodeeva², A.B. Gudkov¹, V.A. Shtaborov², 2008

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ У БОЛЬНЫХ С АБДОМИНАЛЬНОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

А.И. Макаров¹, Л.К. Добродеева², А.Б. Гудков¹, В.А. Штаборов²

¹Северный государственный медицинский университет, г. Архангельск

²Институт физиологии природных адаптаций Уральского отделения Российской академии наук

Макаров А.И.¹, Добродеева Л.К.², Гудков А.Б.¹, Штаборов В.А.² Иммунологическая реактивность у больных с абдоминальной хирургической инфекцией // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 1 (26). – С. 57–61.

¹Северный государственный медицинский университет, 163000, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 61, тел. 8-8182-28-57-91, факс: 8-8182- 26-32-26, e-mail: info@nsmu. ru

²Институт физиологии природных адаптаций Уральского отделения Российской академии наук

Р е з ю м е : В работе представлены результаты изучения показателей иммунологической реактивности у больных при различных абдоминальных инфекциях. Цель исследования обоснована формированием иммунного дефицита и дисбаланса при воспалительных заболеваниях органов брюшной полости у хирургических больных. Полученные результаты доказывают, что при абдоминальной воспалительной патологии происходит снижение показателей иммунологической реактивности и усугубление ее дисбаланса, что необходимо учитывать при обосновании иммунокорректирующей терапии.

К л ю ч е в ы е с л о в а : абдоминальная хирургическая инфекция, иммунологическая реактивность.

Makarov A.I.¹, Dobrodeeva L.K.², Gudkov A.B.¹, Shtaborov V.A.² Immunologic reactivity in patients with abdominal surgical infection // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 1 (26). – P. 57–61.

¹State Educational Establishment of Higher Professional Training «North State Medical University» of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation, 163000, Arkhangelsk, Troitsky prospect, 61, tel.: 8-8182-28-57-91, fax: 8-8182- 26-32-26, e-mail: info@nsmu. ru

²Federal State Institution «Institute of Physiology of Natural Adaptations» of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

S u m m a r y : The research presents the results of studying the characteristics of the immunologic reactivity in the patients with different abdominal infections. The aim of the research is based on forming the immune deficiency and misbalance in the surgical patients with the inflammatory abdominal diseases. The received results prove that the abdominal inflammatory pathology decreases the characteristics of the immunologic reactivity and develops the misbalance, the factors needed to consider in explaining the immune-corrective therapy.

K e y w o r d s : abdominal surgical infection, immunologic reactivity.

На современном этапе развития абдоминальной хирургии проблема диагностики и лечения интраабдоминальных воспалительных заболеваний и их осложнений, в том числе инфекционного характера, занимает особое положение. Основываясь на общепризнанных фактах сопричастности различных микроорганизмов в развитии большей части острых воспалительных заболеваний органов брюшной полости, преобладающем инфекционном характере осложнений после абдоминальных операций стали использоваться термины «абдоминальная хирургическая инфекция», «интраабдоминальная инфекция» [1, 4]. Практически многие авторы сходятся в едином

мнении, что большинство осложнений, возникающих при оказании медицинской помощи больным с острыми хирургическими заболеваниями органов брюшной полости, носят инфекционный характер. Именно в хирургии органов брюшной полости приходится нередко иметь дело с такими фатальными инфекционными процессами, как хирургический сепсис и инфекционно-токсический шок. В исследованиях С.Г. Шаповальянца (2007) отмечено, что послеоперационные инфекционные интраабдоминальные осложнения являются в 50–86% случаев причиной летальных исходов у хирургических больных с абдоминальной патологией [9]. В работе Н.А. Ефименко

(2004) указано, что более 30% летальных исходов в послеоперационном периоде связаны с инфекционными гнойно-воспалительными процессами в брюшной полости [5].

Устойчивость организма к различным воздействиям внешней и внутренней среды определяется многими функциональными параметрами, и в первую очередь иммунологической реактивностью [3]. Резервные возможности поддержания иммунного гомеостаза страдают при патологических состояниях в связи с дополнительной антигенной стимуляцией [10]. Исследования последних лет показали прямую зависимость исходов острых воспалительных заболеваний органов брюшной полости не только от агрессивных факторов (патогенная микрофлора) и адекватности антимикробной терапии, но и в значительной степени от защитных факторов организма [2, 4, 6, 8].

Целью работы явилась оценка состояния иммунологической реактивности у больных с абдоминальной хирургической инфекцией.

Материалы и методы исследования. Проведено обследование 116 пациентов с соблюдением всех принципов, соответствующих стандартам этического комитета. Под наблюдением находились больные с осложненными и неосложненными формами абдоминальных хирургических инфекций, в том числе с острыми аппендицитом (33 человека), холециститом (31), панкреатитом (32) и 20 больных с другими интраабдоминальными заболеваниями, осложненными (53 пациента) и неосложненными (63 пациента) перитонитом. Из 116 больных оперативное лечение проводилось 93 пациентам, не оперированы 23 больных с отечной формой острого панкреатита. Общая летальность составила 9,5% (11 человек). Контрольная группа состояла из 60 здоровых доноров. Всем больным забор крови для иммунологического исследования проводился до начала лечения. Комплекс исследования включал изучение лейкограммы, в том числе лимфоцитограммы, и гуморальных иммунных факторов и осуществлялся при помощи стандартных наборов в иммунологической лаборатории Института физиологии природных адаптаций УрО РАН. Проведен анализ результатов исследований перитонеального и раневого экссудатов. Биологические субстраты были подвергнуты иммунологическому и стандартному бактериологическому исследованию с определением чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Результаты обработаны математическим методом с помощью пакета программ SPSS (версия 12,0).

Результаты исследования и их обсуждение. Анализ показателей лейкоцитограммы у хирургических больных, отражающих состояние неспецифической противомикробной защиты, представлен в таблице 1. Как следует из данных, при воспалительных процессах увеличивается общее количество лейкоцитов периферической крови ($p < 0,05$) и фагоцитарное число ($p < 0,001$). Воспаление характеризуется умеренным нейтрофиль-

Таблица 1

Клеточные факторы врожденного иммунитета при острых интраабдоминальных хирургических заболеваниях ($M \pm m$)

Показатель	Больные, n = 116	Контроль, n = 60
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	$9,00 \pm 0,18^*$	$6,40 \pm 0,25$
Моноциты, %	$7,4 \pm 0,4$	$7,1 \pm 0,3$
Моноциты, $\times 10^9$ /л	$0,69 \pm 0,04^*$	$0,45 \pm 0,03$
Промоноциты, %	$58,2 \pm 0,4^{**}$	$29,0 \pm 0,3$
Моноциты, %	$13,3 \pm 0,4^{**}$	$35,7 \pm 1,6$
Моноциты ПМЯ, %	$28,5 \pm 0,5^*$	$22,5 \pm 0,5$
Индекс пролиферации	$1,16 \pm 0,01^*$	$0,58 \pm 0,03$
Индекс дифференцировки	$0,32 \pm 0,01^{**}$	$0,71 \pm 0,3$
Нейтрофилы, %	$71,4 \pm 1,0^*$	$51,0 \pm 1,3$
Нейтрофилы, $\times 10^9$ /л	$6,92 \pm 0,28^*$	$3,46 \pm 0,19$
Фагоцитарное число	$8,03 \pm 0,04^{**}$	$1,81 \pm 0,18$
Активные фагоциты, %	$48,6 \pm 1,7^*$	$55,3 \pm 2,3$

Примечание. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$

ным лейкоцитозом с увеличением абсолютного и относительного количества клеток, способных к фагоцитозу. Однако при снижении уровня активных фагоцитов до $48,6 \pm 1,66\%$ наблюдается значительное повышение интенсивности фагоцитоза ($8,03 \pm 0,04$ против $1,81 \pm 0,18$ у здоровых).

При отсутствии увеличения относительного количества моноцитов ($p > 0,05$) существенно возрастает его абсолютное количество ($p < 0,05$) прежде всего за счет полиморфноядерных (ПМЯ) форм ($p < 0,05$) и промоноцитов ($p < 0,001$) при значительном уменьшении в периферической крови зрелых моноцитов ($p < 0,001$). При индексе пролиферации моноцитов, который был в два раза выше, чем у здоровых людей, индекс дифференцировки при абдоминальной воспалительной патологии имел значение в два раза ниже физиологического уровня ($p < 0,05$).

Показатели, характеризующие состав лимфоцитограммы, представлены в таблице 2. Установлено, что при заболеваниях воспалительного характера значительно уменьшается относительный уровень содержания лимфоцитов ($p < 0,001$), без существенных изменений абсолютных их концентраций. В реакциях индуцированной фитогемагглютинином (ФГА) бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) установлено снижение резервных возможностей пролиферации Т-клеток. Стимуляция РБТЛ конкавалином А (КК) показала небольшой пролиферативный потенциал В-лимфоцитов ($p > 0,05$).

Сравнение содержания различных фенотипов лимфоцитов позволило установить, что при развитии воспаления в брюшной полости компенсаторно увеличивается содержание зрелых Т-лимфоцитов с рецептором CD3 ($p < 0,05$), но снижается содержание Т-хелперов (CD4+) ($p < 0,05$) и выше активность апоптоза лимфоцитов по концентрации CD95+ ($p < 0,05$).

Таблица 2

Показатели лимфоцитограммы при острых интраабдоминальных хирургических заболеваниях (M ± m)

Показатель	Больные, n = 116	Контроль, n = 60
Лимфоциты, %	19,3 ± 0,8**	38,1 ± 1,2
Лимфоциты, х 10 ⁹ /л	1,71 ± 0,07*	2,58 ± 0,11
Лимфоциты малые, %	75,0 ± 0,6*	52,0 ± 2,3
Лимфоциты средние, %	17,3 ± 0,5**	33,6 ± 1,5
Лимфоциты большие, %	7,6 ± 0,3**	14,3 ± 1,2
РБТЛ спонтанная, %	10,4 ± 0,4*	17,3 ± 2,4
РБТЛ с ФГА, %	39,4 ± 1,6*	49,0 ± 2,7
РБТЛ с КК, %	65,7 ± 2,0	61,8 ± 4,3
CD3+, х 10 ⁹ /л	0,79 ± 0,02*	0,72 ± 0,05
CD4+, х 10 ⁹ /л	0,37 ± 0,02*	0,48 ± 0,03
CD5+, х 10 ⁹ /л	0,86 ± 0,03	0,94 ± 0,09
CD8+, х 10 ⁹ /л	0,48 ± 0,02	0,43 ± 0,03
CD4+/CD8+	0,77 ± 0,02*	1,12 ± 0,03
CD16+, х 10 ⁹ /л	0,18 ± 0,01**	0,35 ± 0,05
CD22+, х 10 ⁹ /л	0,46 ± 0,02*	0,57 ± 0,02
CD25+, х 10 ⁹ /л	0,59 ± 0,02*	0,45 ± 0,03
CD71+, х 10 ⁹ /л	0,46 ± 0,02*	0,82 ± 0,03
CD95+, х 10 ⁹ /л	0,94 ± 0,05*	0,76 ± 0,13
CDHLA-DR+, х 10 ⁹ /л	0,68 ± 0,03	0,67 ± 0,07

Примечание. * – p < 0,05, ** – p < 0,001

Следует обратить внимание на такой показатель, как иммунорегуляторный индекс, отражающий соотношение Т-хелперных и Т-супрессорных субпопуляций лимфоцитов с рецептором CD8. У больных с абдоминальной воспалительной патологией он значимо снижается (p < 0,05), что свидетельствует о снижении Т-клеточноопосредованного иммунитета и приводит к дефициту противоинфекционной защиты.

Как и следовало ожидать, истинными маркерами воспалительной реакции являются провоспалительные цитокины. Результаты исследования содержания цитокинов представлены в таблице 3.

Содержание IL-1α, IL-2 и TNF-α при интраабдоминальных заболеваниях воспалительного характера были в несколько раз выше контрольных значений (p < 0,001). Кроме указанных цитокинов, активность воспалительного заболевания подтверждает повышение уровней СРБ (p < 0,05) и СЗ (p < 0,001), что свидетельствует о более выраженных процессах антителозависимой цитотоксичности с активизацией системы комплемента классическим путем. Более высокий уровень РЭА (p < 0,05) при воспалительных процессах пока трудно объяснить, но этот новый факт интересен с позиций накопления сведений о физиологической роли РЭА в организме и его участия в регуляции гомеостаза. На наш взгляд, это отражает общую тенденцию к пролиферации при воспалении.

Таблица 3

Гуморальные факторы врожденного и адаптивного иммунитета при острых интраабдоминальных хирургических заболеваниях (M ± m)

Показатель	Больные, n = 116	Контроль, n = 60
ЦИК средние, г/л	3,43 ± 0,09	2,08 ± 0,24
ЦИК крупные, г/л	4,59 ± 0,21*	1,97 ± 0,31
Ig M, г/л	2,08 ± 0,02*	1,44 ± 0,06
Ig G, г/л	16,52 ± 0,34*	11,48 ± 0,23
Ig A, г/л	1,72 ± 0,14	1,96 ± 0,08
IL-1α, пг/мл	1,58 ± 0,11**	0,39 ± 0,08
IL-2, пг/мл	0,80 ± 0,04**	0,67 ± 0,08
TNF-α пг/мл	17,15 ± 0,22*	10,90 ± 0,50
sTNF-R1, нг/мл	22,68 ± 1,00**	2,18 ± 0,23
СЗ, г/л	1,67 ± 0,05**	0,66 ± 0,09
С4, г/л	0,54 ± 0,01	0,59 ± 0,35
Пропердин, г/л	0,33 ± 0,01*	0,59 ± 0,05
СРБ, г/л	0,06 ± 0,005*	0,02 ± 0,001
РЭА, нг/мл	7,83 ± 0,45*	3,77 ± 0,14

Примечание. * – p < 0,05, ** – p < 0,001

То, что иммунная система являет собой единое целое, а ее ключевые механизмы (фагоцитирующие клетки, клетки лимфоцитарного ряда и гуморальные компоненты) работают во взаимосвязи друг с другом, не требует доказательства. Еще академик Д.С. Саркисов сформулировал принцип мозаичности функционирования органов и систем, который в полной мере касается и иммунной системы. Нам представилось интересным проанализировать корреляционные взаимоотношения внутри каждого звена иммунной системы у обследованных больных при различных вариантах патологии.

Система фагоцитирующих клеток, филогенетически как наиболее древняя, обладает большей устойчивостью корреляционных связей. При критическом значении r = 0,38 количество значимых коэффициентов составляет 15,6%, а количество коэффициентов более 0,70–9,4%. В популяции лимфоцитов, наоборот, количество корреляционных связей значимо уменьшается по мере нарастания воспалительного процесса. Особенно хорошо это видно по показателям сильной степени: при увеличении количества значимых коэффициентов до 37,7% количество коэффициентов более 0,70 уменьшается вдвое (5,9%). «Поведение» цитокинов имеет такую же закономерность. Если общее количество значимых коэффициентов увеличивается (32,6%) при развитии воспаления в брюшной полости, то корреляция сильной степени не выявляется совсем (0%). При развитии гнойного воспаления количество значимых корреляций увеличивается в два раза. Появляется дополнительная корреляционная связь между полиморфноядерными нейтрофилами и моноцитами (r = -0,42), полиморфноядерными ней-

трофилами и индексом дифференцировки фагоцитов ($r = +0,42$). Следовательно, чем больше нагрузка на иммунную систему, тем больше структур участвует в реализации воспалительной реакции. Взаимоотношения субпопуляций лимфоцитов при гнойном воспалении не претерпевают больших изменений, что доказывается незначительным уменьшением как значимых коэффициентов корреляции, так и коэффициентов корреляции высокой степени. Данный факт, возможно, свидетельствует о некоторой ригидности и невозможности лимфоцитов оперативно включиться в патологический процесс. Не исключено, что это свидетельствует о функциональном напряжении лимфоцитарного звена. Число значимых связей гуморального звена увеличивается по мере усиления воспалительной реакции, достигая при гнойном воспалении уровня 44,9%. Интересен тот факт, что при гнойном воспалении количество коэффициентов высокой степени увеличивается до 12,2%, что может свидетельствовать о функциональном напряжении иммунитета и появлении диагностических маркеров гнойного воспаления.

В последнее время большое внимание исследователей уделяется изучению механизмов развития местного иммунитета. Местный (локальный, мукозный) иммунитет слизистых и серозных оболочек служит первым и наиболее значимым барьером для развития многих бактериальных, в том числе и интраабдоминальных инфекций. У всех больных из внутрибрюшного экссудата выделены бактериальные патогены. В соответствии с делением по уровням приоритетности (Митрохин С.Д., 2002) патогены высокого уровня приоритетности (золотистый стафилококк и патогенный стрептококк) выявлены у половины больных [7]. Патогены среднего уровня приоритетности (стрептококки других видов, энтеробактерии, анаэробы, клостридии) – у второй половины пациентов. Грибы рода Кандида выделены у одного пациента; сочетанная флора – у 6 больных. Уровень обсемененности перитонеального экссудата составил от 10^2 КОЕ/г для золотистого стафилококка и стрептококков до 10^{5-6} КОЕ/г для других видов бактерий. Следует ли это считать критическим фактором возможной генерализации инфекции – вопрос дискуссионный, поскольку в литературе имеются сведения о критическом пороге микробного присутствия для иных биологических субстратов, в частности – для раневых экссудатов. Среди обнаруженных возбудителей основная доля приходилась на грамположительные микробы (67,5%). Грамотрицательные бактерии составили 30,8%, а анаэробы – 1,7%. Частота обнаружения энтерококков составила 7,9% от общего количества выделенных штаммов грамположительных бактерий. Из 43 изученных штаммов энтерококков в 40 случаях выделены *E. faecalis* (93,0%) и только в трех – *E. faecium*. При анализе антибиотикочувствительности выделенных штаммов *E. faecalis* отмечен высокий уровень резис-

тентности к пенициллину (25,6%), ампициллину (21,5%), ампициллин-сульбактаму (11,4%), гентамицину (76,9%). Отличительной особенностью выделенных штаммов *E. faecalis* было отсутствие резистентности к ванкомицину. Обращает на себя внимание увеличение в 2006–2007 гг. частоты обнаружения культур с промежуточной чувствительностью к ванкомицину (7,9%) по сравнению с 2004–2005 гг. (3,3%). Выделенные штаммы *E. faecium* характеризовались более высоким уровнем резистентности к природным пенициллинам (33,3%), аминопенициллинам (66,87%) и, особенно, аминогликозидам 2 поколения (100%). Не выявлено штаммов, обладающих резистентностью и промежуточной чувствительностью к ванкомицину.

Цитологическое исследование показало, что соотношение мононуклеаров и полиморфноядерных лейкоцитов в экссудате составляет 0,6: 1. В относительном выражении клетки представлены следующим образом: моноциты 7,8% \pm 1,4%, лимфоидные клетки 15,0% \pm 2,0%, нейтрофилы 35,6% \pm 7,1%, причем, в случаях развития септического процесса количество нейтрофилов уменьшалось до 2,0%. Снижение содержания полиморфноядерных нейтрофилов в экссудате сопровождалось снижением других показателей иммунологической реактивности. Так, фагоцитарное число составило 4,5 \pm 0,4 м/фц., сорбционная активность клеток – 10,1 \pm 1,3 ед. /кл., количество активных фагоцитов – 38,3% \pm 1,7%. Обращает внимание невысокое содержание иммунных комплексов – 5,7 \pm 0,7 г/л; лишь у больных с тяжелым течением сепсиса уровень иммунных комплексов превышал среднее значение почти в 2 раза (9,5 г/л). У всех больных диагностирован дефицит секреторного IgA (0,42 \pm 0,02 г/л).

З а к л ю ч е н и е . Таким образом, иммунный ответ у больных с абдоминальной хирургической инфекцией характеризуется снижением количественных и функциональных показателей механизма клеточного иммунитета, сокращением резервной возможности увеличения пролиферации Т-лимфоцитов, индуцированной тимусзависимым митогеном. Гнойное воспаление формируется на фоне снижения активности дифференцировки моноцитов и активности фагоцитоза. Компенсаторным механизмом при этом является повышение интенсивности фагоцитоза. Выявленные изменения необходимо учитывать в клинической практике при обосновании целесообразности проведения иммунокорригирующей терапии.

Выявленные микробиологические и иммунологические изменения в перитонеальной жидкости при абдоминальной хирургической патологии отражают общие закономерности развития воспалительного процесса; свидетельствуют о наличии иммунологической недостаточности, что, возможно, и переводит воспалительную реакцию из категории защиты в категорию повреждения.

Список литературы

1. Абдоминальная хирургическая инфекция: клиника, диагностика, антимикробная терапия: Практическое руководство / под ред. В.С. Савельева, Б.Р. Гельфанда. – М.: Литтерра, 2006. – 168 с.
2. Брискин Б.С., Хачатрян Н.Н., Савченко З.И. Иммунные нарушения и иммунокоррекция при интраабдоминальной инфекции // Хирургия. – 2004. – Приложение 1. – С. 16–21.
3. Виткина Т.И. Характер межсистемных взаимодействий при хроническом бронхите в различных экологических условиях // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. XI, № 1. – С. 175–178.
4. Ерюхин И.А., Багненко С.Ф., Григорьев Е.Г. и др. Абдоминальная хирургическая инфекция – современное состояние и ближайшее будущее в решении актуальной клинической проблемы // Инфекция в хирургии. – 2005. – Т. 2, № 4. – С. 2–6.
5. Ефименко Н.А., Гучев И.А., Сидоренко С.В. Инфекции в хирургии. Фармакотерапия и профилактика. – Смоленск, 2004. – 294 с.
6. Карсонова М.И., Юдина Т.И., Пинегин Б.В. Некоторые общие вопросы иммунитета, иммунодиагностики и иммунотерапии на модели хирургических инфекций // Медицинская иммунология. – 1999. – Т. 1, № 1. – С. 119–132.
7. Митрохин С.В. Инфекционные осложнения в хирургии: антибактериальная профилактика и терапия // Инфекции и антимикробная терапия. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 50–58.
8. Применение иммуномодуляторов в хирургической клинике / под ред. В.А. Ступина, И.Е. Гридчика, А.Л. Коваленко. – М., 2005. – 56 с.
9. Шаповальянц С.Г., Линденберг А.А., Таймаскина М.Т. и др. Диагностика интраабдоминальных инфекционных осложнений после неотложных операций на органах брюшной полости // Анн. хирургии. – 2007. – № 2. – С. 71–77.
10. Щеголева Л.С. Резервные возможности иммунного гомеостаза у человека на севере: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Архангельск, 2005. – 38 с.

© Ю.А. Лешихина, Н.В. Прилуцкая, Т.М. Цкаева, С.Ю. Жидких, Э.Т. Джафаров, В.Л. Балдин, Ф.О. Овсяницкий, 2008
 © Yu. A. Leshikhina, N.V. Prilutskaya, T.M. Tskaeva, S. Yu. Zhidkikh, E.T. Dzhabarov, V.L. Baldin, F.O. Ovsyanitsky, 2008

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

**Ю.А. Лешихина, Н.В. Прилуцкая, Т.М. Цкаева, С.Ю. Жидких, Э.Т. Джафаров,
В.Л. Балдин, Ф.О. Овсяницкий**

*Российский государственный медицинский университет, Москва, Россия
Городская клиническая больница № 15, Москва, Россия*

Лешихина Ю.А., Прилуцкая Н.В., Цкаева Т.М., Жидких С.Ю., Джафаров Э.Т., Балдин В.Л., Овсяницкий Ф.О. Профилактика и лечение гнойно-септических осложнений у хирургических больных // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 61–65.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУВПО РГМУ Росздрава), Россия, 117869, Москва; ул. Островитянова, д. 1, тел.: 8 (495) 434-14-22.

Городская клиническая больница № 15, Москва

Leshikhina Yu. A., Prilutskaya N.V., Tskaeva T.M., Zhidkikh S. Yu., Dzhabarov E.T., Baldin V. L., Ovsyanitsky F.O. Prevention and treatment of purulent-septic complications in surgical patients // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 61–65.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Russian State Medical University of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», Russia, 117869, Moscow; Ostrovityanova str., h. 1, phone.: 8 (495) 434-14-22.

S u m m a r y : The study helped to develop general principles of immunocorrection by cycloferon in case purulent infection of the abdominal cavity. When it is impossible to determine immune status parameters it is necessary to choose immunotherapy depending on the severity of the patient's state basing on clinical data (scales of estimation of severity SIRS, SAPS). Patients with purulent-septic diseases of the abdomen whose severity state corresponds to SIRS1–3, SAPS ≤6 are recommended to include cycloferon into the scheme of their treatment. Timely cycloferon use increases the efficiency of treatment, reducing the risk of purulent-septic complications development in postoperative period.

Проведенное исследование способствовало выработке общих принципов иммунокоррекции препаратом Циклоферон при гнойной инфекции брюшной полости. При отсутствии возможности определения показателей иммунного статуса, подобрать вид иммунотерапии ориентируясь на тяжесть состояния больного, руководствуясь

клиническими данными (шкалы оценки тяжести SIRS, SAPS). Больным с гнойно-септическими заболеваниями брюшной полости, тяжесть состояния которых соответствует SIRS1–3, SAPS ≤ 6 показано включать в схему лечения Циклоферон. Своевременно начатая терапия Циклофероном повышает эффективность лечения, уменьшая риск развития

гнойно-септических осложнений в послеоперационном периоде.

Несмотря на большое количество современных методов лечения, высокоэффективных антибактериальных и асептических средств, проблема лечения хирургической инфекции сохраняет свою актуальность в настоящий момент. Увеличение количества и тяжести течения гнойно-септических заболеваний и послеоперационных осложнений в последние годы вызывает сильную тревогу. Число больных госпитализированных с острыми заболеваниями органов брюшной полости за период с 2001 года по 2004 год неуклонно растет [1]. По литературным данным, более чем на 53 тысяч операций, частота гнойно-септических послеоперационных осложнений колеблется от 1,51% до 27,8% [2, 3, 4].

Основой патогенеза воспалительной реакции является запуск цитокинового каскада, регуляцию которого осуществляют, с одной стороны, провоспалительные цитокины, а с другой – противовоспалительные медиаторы. Важно отметить, что защитная роль провоспалительных цитокинов проявляется тогда, когда они работают локально, в очаге воспаления. Напротив, избыточная продукция провоспалительных цитокинов с выходом их в общий кровоток приводит к развитию бактериально-токсического шока и органных дисфункций, что является причиной летального исхода на ранних этапах септического процесса. Для предотвращения генерализации проявлений системного воспаления в организме включаются механизмы негативного контроля – опосредованная продукция противовоспалительных цитокинов. Для обозначения данного состояния R. Bone в 1996 г. предложил использовать термин CARS (синдром компенсаторного противовоспалительного ответа – compensatory antiinflammatory response syndrome). В систему CARS входит группа противовоспалительных медиаторов (ИЛ-10, ИЛ – 4, ТРФ- β) и растворимых ингибиторов (ФНО, ИЛ-1, ИЛ-1RA). При адекватном ответе CARS подавляет системную воспалительную реакцию и приводит к восстановлению гомеостаза. В то же время при чрезмерно выраженном или/и пролонгированном течении CARS происходит развитие глубокой иммунодепрессии, что клинически проявляется хронизацией или диссеминацией инфекции, присоединением нозокомиальной микрофлоры, нарушением процесса репарации, утяжелением эндотоксикоза и формированием поздней полиорганной недостаточности. Это в конечном результате приводит к летальному исходу на поздних этапах септического процесса [5]. Баланс между этими двумя группами во многом определяет характер и исход гнойно-септического процесса в организме. Все цитокиновые реакции необходимо рассматривать как неотъемлемое звено гуморального и клеточного иммунитета. Соответственно управление цитокиновым балансом, рассматривается на настоящий момент как точка приложения терапии направленной на лечение гнойно-септических осложнений. Результатом такой терапии будет нормализация

естественных клеточных и гуморальных механизмов резистентности организма и формирование адекватного иммунного ответа.

Исход любого острого воспалительного заболевания зависит от соотношения агрессивных (микробы и вирусы) и защитных факторов организма – иммунная система. Исходя из этого, требуется подробное изучение показателей иммунного статуса и при наличии отклонений от норм его соответствующей коррекции. В современной литературе имеется множество данных о сопряженности развития хирургической инфекции с выраженными изменениями в иммунной системе, которые относят к разряду вторичных иммунодефицитных изменений [6, 7, 8, 9, 14]. Таким образом, становится понятным что, помимо осуществления общих принципов хирургического вмешательства и ведения больных в послеоперационном периоде, особое значение приобретают мероприятия по восстановлению иммунного гомеостаза. В настоящий момент на фармакологическом рынке имеется ряд иммуномодулирующих препаратов, которые воздействуют на различные клетки иммунной системы с различным эффектом [10, 11, 12, 13]. Одним из таких препаратов является иммуномодулятор, индуктор эндогенного интерферона – Циклоферон.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – изучить возможность применения иммуномодулирующих препаратов по восстановлению иммунного гомеостаза, которые воздействуют на различные клетки иммунной системы для профилактики профилактики и лечения гнойно-септических осложнений у хирургических больных.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я. На кафедре госпитальной хирургии № 1 РГМУ на базе ГКБ № 15 проводилось пострегистративное клиническое исследование (фаза 4), направленное на оценку эффективности препарата Циклоферон в комплексном лечении больных с гнойно-септической патологией органов брюшной полости.

Учитывая данные литературы [6], считается, что проведение иммуномодулирующей терапии показано пациентам с легкой и средней степенью тяжести органных дисфункций, так как у этой группы пациентов сохраняется энергетический потенциал клетки организма к выработке иммунного ответа. У больных в тяжелом состоянии с признаками полиорганной недостаточности эта способность отсутствует, поэтому им необходимо проведение только иммунозамещающей терапии. Согласно шкалам оценки тяжести состояния SIRS и SAPS, легкая и средняя степень органных дисфункций соответствует SAPS ≤ 6 , SIRS 1–3. Согласно этому, критериями включения в наше исследование стали: наличие гнойно-септического очага, оценка по шкале SAPS ≤ 6 баллов в первые сутки послеоперационного периода, SIRS 1–3 в первые сутки послеоперационного периода, возможность начала использования в программе лечения циклоферона не позднее, чем через 24 часа от момента операции.

Пациенты были разделены на две группы – основную и контрольную. Пациенты основной группы получали препарат Циклоферон на фоне традиционной терапии. Пациенты контрольной группы получали традиционную терапию. Схема введения Циклоферона: первое введение производилось не позднее чем через 24 часа от оперативного вмешательства. Дозировка: 4 мл (250 мг) 12.5% раствора Циклоферона, 1 раз в сутки, внутривенно или внутримышечно с последующим переходом, при восстановлении функции желудочно-кишечного тракта, на таблетированную форму – 4 таблетки Циклоферона (600мг), один раз в сутки, утром до еды. Препарат вводился на 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20 и 23 сутки после операции.

В исследование вошел 61 пациент с гнойно-септической патологией брюшной полости: основная группа – 27 больных; контрольная – 34 больных. Средний возраст больных составил: в основной группе – $42,5 \pm 3,2$ года; в контрольной – $41,2 \pm 2,75$ года (Критерий Manna-Whitney, $p = 0,901$). Распределение по полу было соответственно: в основной группе – женщин – 7 (25,9%), мужчин – 20 (74,1%); в контрольной группе – женщин – 11 (32,35%), мужчин – 23 (67,65%).

Основную часть пациентов составили больные с диагнозами – острый панкреатит и острый аппендицит, осложненный перитонитом (рис. 2). При сборе анамнеза у 50% больных в контрольной и в 62,96% больных в основной группе выявлялось наличие сопутствующей патологии (рис. 3). При включении больных в исследование проводилась оценка тяжести их состояния по шкалам SIRS, SAPS и альбуминовому тесту. В результате достоверной разницы между основной группой и контрольной выявлено не было.

Таблица 1

Оценка тяжести состояния больных при поступлении

Шкала	Группа		
	Контрольная группа n = 34	Основная группа n = 27	Критерий Manna-Whitney, P
SIRS	2,029 \pm 0,123	1,852 \pm 0,148	0,499
SAPS	3,827 \pm 0,238	4,217 \pm 0,421	0,268
ЭКА	23,884 \pm 1,256	24,83 \pm 1,694	0,984
ОКА	28,615 \pm 1,293	29,291 \pm 1,63	0,961

Всем больным, кроме одного, в 1-е сутки после установления диагноза было проведено хирургическое вмешательство. Единственный больной, вошедший в контрольную группу, которому не была оказано хирургическое пособие в начале лечения, поступил в хирургическое отделение с диагнозом острый панкреатит, жировой панкреонекроз и показаний к каким-либо хирургическим вмешательствам впервые несколько суток лечения у больного не было.

Учитывая вид хирургического вмешательства, мы разделили пациентов на три группы. В первую группу вошли пациенты, которым была произведена лапаро-

томия с санацией гнойного очага под эндотрахиальным наркозом. Во второй группе была произведена лечебная лапароскопия с дренированием брюшной полости под внутривенным наркозом. И, наконец, к третьей группе были отнесены пациенты, у которых хирургическое пособие заключалось в малоинвазивном вмешательстве – пункции и дренирование гнойного очага под контролем УЗИ с использованием местной инфильтративной анестезии.

Таблица 2

Виды хирургических вмешательств

Вид хирургического вмешательства	Контрольная группа, n = 34	Основная группа, n = 27	P
Лапаротомия с санацией гнойного очага	16 (48,5%)	12 (44,5%)	Критерий Пирсона, 0,83872
Лапароскопия с дренированием брюшной полости	15 (45,5%)	11 (41%)	Критерий Пирсона, 0,79109
Пункции и дренирование гнойного очага под контролем УЗИ	2 (6%)	4 (14,5%)	χ^2 , 0,23208

Из выше приведенных данных видно, что основная группа и группа контроля были однородны по полу и возрасту больных, по локализации первичного очага инфекции и наличию сопутствующих патологий, по степени тяжести на момент поступления и объему проведенных первичных хирургических вмешательств.

Клиническое состояние больного и течение раневого процесса оценивались ежедневно утром до введения Циклоферона с момента поступления больного в стационар и на протяжении всего периода исследования. Производилась оценка тяжести состояния пациентов по балльным системам, исследование альбуминового теста и рентгенологический контроль состояния органов грудной клетки на 1, 4, 10, 20 и 30 сутки.

Для оценки результатов проводимой терапии были проанализированы исход заболевания, количество койко-дней, проведенных в отделении интенсивной терапии и всего в стационаре, развитие гнойно-септических осложнений в послеоперационном периоде: пневмоний, осложнений со стороны послеоперационной раны (нагноение, эвентрация, флегмона передней брюшной стенки), развитие внутрибрюшных абсцессов.

Результаты исследования. При анализе исходов летальность в контрольной группе составила 11,76%, в основной – 14,81%. Один больной в основной группе был исключен из исследования в связи с переводом в другой стационар на 4-е сутки после начала лечения. Дальнейшие расчеты производились из расчета 26 пациентов в основной группе.

Длительность стационарного лечения в контрольной группе составила $21,76 \pm 2,992$ койко-дня, а в ос-

Таблица 3

Исход лечения

Группа	выписка	смерть	исключение	χ , P
Конт- рольная n = 34	30 (88,24%)	4 (11,76%)	0	0,40315
Основ- ная n = 27	22 (81,48%)	4 (14,81%)	1 (3,7%)	

новой 23,33 ± 3,045 койко-дня (коэффициент Manna-Whitney $p = 0,467832$). Длительность нахождения больных на лечении в отделении интенсивной терапии в контрольной группе составила 3,21 ± 0,596, в основной группе – 6,7 ± 1,545 койко-дня соответственно (коэффициент Manna-Whitney, $p = 0,052569$). Пневмония в послеоперационном периоде в контрольной группе развилась у 7 больных (20,59%), а в основной группе – только у одной пациентки (3,7%) (Коэффициент χ , $P = 0,003866$). Развитие внутрибольничных пневмоний потребовало смены антибиотиков, увеличились сроки пребывания этих больных в отделении интенсивной терапии и, следовательно, сроки пребывания в стационаре. У 7 (20,59%) пациентов в контрольной группе были выявлены внутрибрюшные абсцессы, которые повлекли за собой необходимость проведения дополнительных хирургических манипуляций (пункции и дренирование под контролем УЗИ). В основной группе абсцессы брюшной полости были диагностированы только у одного пациента (3,7%) (Коэффициент χ , $P = 0,003866$). Раневые осложнения в контрольной группе у 3 (8,82%) пациентов развились в виде нагноения послеоперационной раны, эвентрации и развития флегмоны передней брюшной стенки. Причем у одного пациента имелось сочетание нагноения раны и эвентрации, что привело к необходимости повторного хирургического вмешательства. У другого пациента развилась флегмона передней брюшной стенки, что потребовало двух хирургических обработок гнойного очага (ХОГО). В основной группе раневых осложнений зафиксировано не было – все послеоперационные раны заживали первичным натяжением (Коэффициент χ , $P = 0,0562$) (рис. 4).

Необходимость включения иммуномодулирующих препаратов в схему лечения больных с хирургической патологией обусловлена нарушениями в той или иной степени иммунного статуса вследствие основного заболевания, отрицательным воздействием на иммунитет хирургического вмешательства и анестезиологического пособия, негативным влиянием медикаментозных препаратов на различные звенья иммунной системы, наличием сопутствующих заболеваний. К сожалению, не смотря на то, что необходимость и эффективность применения иммуномодулирующих препаратов в схеме лечения хирургических больных не вызывает сомнения, до настоящего момента они не входят в комплекс обязательных лечебных мероприятий у

больных с гнойно-септической патологией брюшной полости. Особое значение приобретает иммунотерапия при гнойной инфекции брюшной полости, так как именно динамикой взаимодействия защитных сил организма и микробной агрессии определяются исход и течение гнойно-воспалительного процесса. Одним из препаратов выбора, который может входить в схему лечения гнойно-септических процессов брюшной полости, является Циклоферон. Нами были получены достоверные данные, которые свидетельствуют о том, что применение Циклоферона в комплексной терапии способствует уменьшению числа послеоперационных, гнойно-септических осложнений, таких как: пневмонии, внутрибрюшные абсцессы и осложнений со стороны раны. К сожалению, мы не получили выраженного влияния препарата на исход заболевания и длительность госпитализации.

З а к л ю ч е н и е . Проведенное исследование способствовало выработке общих принципов иммунотерапии препаратом Циклоферон при гнойной инфекции брюшной полости. При отсутствии возможности определения показателей иммунного статуса, подобрать вид иммунотерапии ориентируясь на тяжесть состояния больного, руководствуясь клиническими данными (шкалы оценки тяжести SIRS, SAPS). Больным с гнойно-септическими заболеваниями брюшной полости, тяжесть состояния которых соответствует SIRS1–3, SAPS ≤6 показано включать в схему лечения Циклоферон. Своевременно начатая терапия Циклофероном повышает эффективность лечения, уменьшая риск развития гнойно-септических осложнений в послеоперационном периоде.

Список литературы

1. Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора в г. Москве «Доклад о здоровье населения Москвы в 2004 году». http://www.mosgorzdrav.ru/mgz/komzdravsite.nsf/va_WebPages/page_00176?OpenDocument
2. Донцов В.И., Попова Т.А., Башкова Н.М., Юровская А.И. Внутрибольничные инфекции в г. Екатеринбурге в 90-е гг. XX века // Тез. докл. II Российск. научно-практ. конф. с межд. участием. – М., 1999. – С. 87–89.
3. Филатов Н.Н., Храпунова И.А., Матвеев С.И. Проблема гнойно-септических инфекций в стационарах хирургического профиля // Тез. докл. II Российск. научно-практ. конф. с межд. участием. – М., 1999. – С. 254–255.
4. Аверьянов М.Г., Соколовский В.Т. Эпидемиологический надзор за внутрибольничными инфекциями в хирургических стационарах с использованием компьютерной программы эпидемиологического мониторинга // Тез. докл. II Российск. научно-практ. конф. с межд. участием. – М., 1999. – С. 6–7.
5. Останин А.А., Черных Е.Р. Эффективность цитокинотерапии Ронколейкином в комплексном лечении хирургических инфекций: Пособие для врачей // НИИ клинической иммунологии СО РАМН СПб: Изд-во СПб ун-та, 2002. – 28 с.
6. Брискин Б.С., Хачатрян Н.Н., Савченко З.И., Евстифеева О.В., Гарсия-Мартинес Х.С. Иммунные нарушения и иммунотерапия при интраабдоминальной инфекции // Хирургия. Приложение к Consilium Medicum. – 2004. – Том 6 – № 2.

7. Завада Ю.Г. и др. Иммунный статус при перитоните и пути его патогенетической коррекции. – 2001.

8. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммунодефициты: диагностика и иммунореабилитация // Лечащий врач. – 1999. – № 2–3. – С. 63–69.

9. Ахаладзе Г.Г., Симонов. А., Дюжева Т.Г., Докучаев К.В. Значение иммунных нарушений при деструктивном панкреатите. – <http://expo.medi.ru/surg01/Surg1403.htm>

10. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Андропова Т.М. Отечественные иммуноотропные лекарственные средства последнего поколения и стратегия их применения // ГНЦ – Институт иммунологии МЗ РФ, Москва, Институт биоорганической химии им. М.М. и Ю.А. Овчинниковых РАН. – 2004.

11. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Андропова Т.М. Отечественные иммуноотропные лекарственные средства последнего поколения и стратегия их применения // ГНЦ – Институт иммунологии МЗ РФ, Москва, Институт биоорганической химии им. М.М. и Ю.А. Овчинниковых РАН, 2004.

12. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Основные принципы иммуномодулирующей терапии // ГНЦ РФ – Институт иммунологии Минздрава России, Москва. 2003.

13. Carle J. Immunological therapy in sepsis: currently available // Int. Care. Med. 2001. N 27. P. 93–103.

14. Вегержинский А.Г., Коваленко Н.Е., Ситник А.Г., Родослав Л.С. Фельдман А.В., Мищенко Л.В., Уварова Е.Б. Методы снижения риска возникновения гнойно-септических осложнений у больных с повреждением опорно-двигательного аппарата. – <http://www.medlinks.ru/article.php.sid=126>

© Т.М. Бурданова М.В. Чеснокова К.А. Аитов, 2008

© T.M. Burdanova, M.V. Chesnokova, K.A. Aitov, 2008

КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РОЖИСТОГО ВОСПАЛЕНИЯ. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЦИКЛОФЕРОНА

Т.М. Бурданова М.В. Чеснокова К.А. Аитов

Иркутская государственная медицинская академия, г. Иркутск, Россия

Бурданова Т.М., Чеснокова М.В., Аитов К.А. Клинико-патологические аспекты рожистого воспаления. Эффективность применения Циклоферона // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 65–69.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Иркутская государственная медицинская академия» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации, Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, д. 1, тел. 8-395-233-35-97.

Результаты исследования показали, что для рецидивирующей рожи характерно преобладание среднетяжелого течения (80,6%) с развитием эритематозных форм (77,5%) и преимущественная локализация процесса на нижних конечностях (84,8%). Клиническое течение рецидивирующей рожи отличается от первичной: по меньшей выраженности и продолжительности лихорадочного периода, большей продолжительности местных проявлений, редким развитием регионарного лимфаденита и лейкоцитоза, но более частым развитием лейкопении.

Показатели ПОЛ и провоспалительных цитокинов в период разгара рожистого процесса определяют тяжесть течения болезни, а в период реконвалесценции первичной рожи – ее исход. Сохранение высоких концентраций ГПЛ (11,3 ± 0,09 мкм/мл), МДА (11,3 ± 0,09 мкм/мл) и ФНО-α (45,7 ± 0,8 пг/мл) в период реконвалесценции у больных первичной рожой являются прогностически неблагоприятными в плане развития ранних рецидивов.

Применение препарата «Циклоферон» в комплексном лечении первичной рожи достоверно снижает частоту развития последующих рецидивов заболевания от 19 до 51%, уменьшает концентрацию токсичных продуктов ПОЛ (ГПЛ и МДА) и провоспалительного цитокина ФНО-α, а также способствует уменьшению продолжительности основных синдромов заболевания, сокращая пребывание больного в стационаре.

Burdanova T.M., Chesnokova M. V., Aitov K.A. Clinical-and-pathologic aspects of erysipelas. Efficacy of Cycloferon // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 65–69.

The results of the study performed showed that relapsing erysipelas is characterized by moderate-severe course (80.6%) with the development of erythematous forms (77.5%) and primary localization of the process on the lower extremities (84.8%). Clinical course of relapsing erysipelas differs from the primary one by less marked manifestation and duration of the feverish state, long-lasting local manifestations, rare development of regional lymphadenitis and leukocytosis, but more frequent development of leukopenia.

POL and anti-inflammatory cytokines parameters determine the severity of the disease at the peak of erysipilantous process, and in reconvalescence period of primary erysipelas – its outcome. Persistence of high GPL (11.3 ± 0.09 mcm/ml), MDA (11.3 ± 0.09 mcm/ml) and FNO – α (45.7 ± 0.8 pg/ml) concentrations in reconvalescence period in patients with primary erysipelas is prognostically unfavorable considering the development of early relapses.

Use of «Cycloferon» in a complex treatment of primary erysipelas reduces frequency of development of the subsequent relapses of the disease from 19 to 51%, decreases concentration of toxic POL (GPL and MDA) products and proinflammatory cytokine FNO – α, and also promotes reduction of duration of the basic syndromes of the disease, thus reducing the period of hospitalization.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АОА – антиоксидантная активность
ГПЛ – гидроперекиси липидов
ИОИКБ – Иркутская областная инфекционная клиническая больница
ИЛ – интерлейкин
МДА – малоновый диальдегид

ПОЛ – перекисное окисление липидов
ОР – относительный риск
САР – снижение абсолютного риска
СОЭ – скорость оседания эритроцитов
ФНО – фактор некроза опухолей
ЦФ – циклоферон

Согласно современной концепции патогенеза рож, важное значение приобретает установление диагностической и прогностической роли цитокинов – универсальных факторов межклеточных взаимодействий. Руководствуясь представлением о том, что в процессе формирования хронического воспаления активированные макрофаги начинают продуцировать прооксиданты и провоспалительные цитокины, можно предположить, что дальнейшее изучение динамики данных продуктов при рож поможет контролировать исход патологического процесса.

В связи с этим вызывает интерес применение индукторов эндогенного интерферона при данной патологии, ввиду их выраженного противовоспалительного и иммуномодулирующего эффектов, а также отсутствия побочных эффектов.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я : установление эпидемиологических, клинико-патогенетических особенностей и факторов, определяющих риск возникновения рецидивов рож для совершенствования методов прогнозирования, лечения и профилактики.

М а т е р и а л и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . Эпидемиологический анализ заболеваемости рож за 11-летний период (1995–2005 гг.) проведен на примере крупного инфекционного стационара г. Иркутска – Иркутской областной инфекционной клинической больницы (ИОИКБ) на основании первичной медицинской документации 2420 больных (Ф. № 066/У-ВР «карта вышедшего из стационара» и Ф. № 003/У «медицинская карта стационарного больного»). Показатели рассчитывались на 1000 госпитализированных (‰) больных. В проспективном эпидемиологическом исследовании для оценки роли «факторов риска» в развитии рецидивов у реконвалесцентов первичной рож проводили сопоставление показателей их частоты среди лиц с развитием (опытная группа – 26 человек) и отсутствием рецидива (контрольная группа – 60 человек) в течение срока наблюдения, используя показатель относительного риска (ОР) (Черкасский Б.Л., 2001). Если полученная величина ОР была больше 3,84, то в этом случае делался вывод, что наблюдаемые между сравниваемыми группами различия эпидемиологически не случайны, то есть достоверно обусловлены.

Для определения эффекта циклоферона в отношении влияния на частоту рецидивов у больных первичной рож учитывали отдаленный исход заболевания в основной группе (36 больных) и в группе сравнения (51 больной) при помощи анализа таблицы сопряженности с вычислением критерия χ^2 и расчетом «терапевтической пользы» (снижение абсолютного риска – САР). На фоне стандартной терапии циклоферон назначали внутримышечно (12,5% – 4 мл×1 раз в сутки), с последующим переходом на таблетированную форму (300 мг×1 раз в сутки) в течение 2-х месяцев.

Под наблюдением в течение 18–36 месяцев находилось 139 больных с различными формами рож, госпитализированных в ИОИКБ в 2004–2006 гг., в том числе с рецидивирующей – 49 (35,2%) больных, с пер-

вичной – 90 (64,7%) больных. Диагноз рож устанавливали в соответствии с общепринятой в России классификацией В.Л. Черкасова (1991).

У 108 пациентов проведено исследование уровня продуктов ПОЛ в сыворотке крови: малонового диальдегида (МДА), гидроперекисей липидов (ГПЛ) и антиоксидантной активности сыворотки (АОА) крови. Концентрацию ГПЛ определяли спектрофотометрическим методом (Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И., 1983), концентрацию МДА – методом, описанным М.С. Гончаренко и А.М. Латиновой (1985), АОА сыворотки – по методу Г.И. Клебанова и соавт. (1988). Исследование данных показателей проведено на спектрофотометре СФ-56, на базе ЦНИЛ ИГМУ (зав. – д. м. н. Макаров О.А.).

Дополнительно 86 пациентам проведено исследование уровней провоспалительных цитокинов (ИЛ 1 β , ФНО- α) в сыворотке крови методом ИФА с применением тест-систем производства ООО «Протеиновый контур» (Россия) ProCon TNF α и ProCon IL-1 β , с использованием автоматического ридера для стрипов и микропланшет ELx800 «Биолайн» (Россия). Исследование цитокинов проведено на базе бактериологической лаборатории ИОИКБ (зав. – Коган Г.Ю.).

Исследование показателей ПОЛ и цитокинов проводили в динамике заболевания: в период разгара (при поступлении в стационар) и в период реконвалесценции – перед выпиской из стационара. В выборку не включались больные с развитием гнойно-некротических осложнений рожистого процесса. В качестве контрольной группы было обследовано 28 относительно здоровых добровольцев, никогда не болевших рож и сопоставимых по возрасту с группой больных.

Лечение больных проводили с учетом кратности заболевания, клинической формы, тяжести течения болезни. В качестве этиотропной терапии применялись антибиотики различных групп: бензилпенициллин (в суточной дозе 6 млн ЕД) в/м, цефалоспорины 1-го, 2-го и 3-го поколений в рекомендуемых дозах в/м, рифампицин, ципрофлоксацин – per os.

В качестве патогенетической терапии применялись дезинтоксикационные, противовоспалительные, десенсибилизирующие, общеукрепляющие средства, в некоторых случаях – УФО и магнитотерапия. В качестве симптоматической терапии применяли анальгетирующие, успокоительные, мочегонные препараты. При наличии обширных эрозий пораженного участка применяли повязки с фурациллином (с ежедневной заменой), эктерицид местно. При обширных фибриновых отложениях использовали мази с антибиотиками (левомеколь, банеоцин).

В соответствии с задачами, поставленными в исследовании, мы определяли у больных первичной и рецидивирующей рож в динамике заболевания содержание промежуточных (ГПЛ) и конечных (МДА) продуктов ПОЛ, АОА, а также содержание провоспалительных цитокинов ИЛ 1- β и ФНО- α . Все вышеперечисленные показатели анализировали с учетом сте-

пени тяжести и кратности возникновения болезни. В связи с этим было сформировано 4 группы пациентов: в 1 и 2 группы вошли больные со среднетяжелым течением, в 3 и 4 группы вошли больные с тяжелым течением первичной и рецидивирующей рожи, соответственно.

Результаты исследования. В период разгара заболевания во всех группах происходило достоверное повышение концентрации продуктов перекисного окисления липидов: ГПЛ в 1,6–2,3 раза ($p < 0,001$) и МДА в 1,4–3,1 раза ($p < 0,001$). Их концентрация достоверно преобладала при первичной роже в сравнении с рецидивирующей, что возможно, свидетельствует о более выраженном иммунном ответе, возникающем при остром инфекционном процессе, вызывающим более значительную продукцию прооксидантов. Кроме того, концентрация обоих продуктов ПОЛ достоверно преобладала при тяжелом течении в сравнении со среднетяжелым. АОА сыворотки во всех группах снижалась в 2,5–4,8 раз ($p < 0,001$), причем, наиболее выражено – при тяжелом течении рецидивирующей рожи что, вероятно, было обусловлено истощением антиоксидантного потенциала в организме больных вследствие длительно текущего воспалительного процесса.

Концентрация ИЛ-1-β достоверно ($p < 0,001$) повышалась лишь в группах больных с тяжелым течением заболевания, а в остальных – не отличалась от контроля. Концентрация ФНО-α достоверно повышалась во всех группах в 1,5–3 раза ($p < 0,001$) с преобладанием концентрации в группах больных с тяжелым течением. Различий в зависимости от кратности заболевания для обоих цитокинов не установлено.

Период реконвалесценции характеризовался тенденцией к нормализации липоперекисного гомеостаза: концентрация продуктов ПОЛ снижалась, а анти-

оксидантная активность сыворотки увеличивалась. Однако следует отметить, что вышеуказанные показатели все же достоверно отличались от показателей контрольной группы, а у больных рецидивирующей рожей наблюдалась тенденция к сохранению концентраций продуктов ПОЛ, характерных для периода разгара заболевания.

В период реконвалесценции концентрация ИЛ-1-β в группах больных с тяжелым течением рожи достоверно снижалась относительно периода разгара ($p < 0,001$), но была выше ($p < 0,001$) контроля. В остальных группах изменений данного показателя в динамике заболевания не выявлено. Концентрация ФНО-α снижалась во всех группах ($p < 0,001$) и перед выпиской была повышена относительно контроля в группах больных, перенесших заболевание в тяжелой степени.

Для изучения возможной прогностической ценности этих показателей мы сравнили значения, полученные перед выпиской из стационара, от больных первичной и рецидивирующей рожей, у которых развился ранний рецидив заболевания (группы 1 р и 2 р соответственно), с показателями больных без последующего развития рецидивов (группы 1 о и 2 о соответственно).

Результаты показали (табл. 1), что у больных, перенесших первичную рожу с развитием дальнейшего рецидива (группа 1 р), в период реконвалесценции наблюдались достоверно более высокие показатели ГПЛ, МДА и ФНО-α относительно группы больных с благоприятным исходом заболевания, при этом в последней (группа 1 о) концентрация МДА и ФНО-α не отличалась от показателей контрольной группы.

В отношении АОА сыворотки и ИЛ-1-β подобных различий выявлено не было. В отношении больных, перенесших рецидивирующую рожу (группы 2 р и

Таблица 1

Показатели ГПЛ, МДА, АОА, ИЛ 1-β и ФНО-α в период реконвалесценции у больных первичной и рецидивирующей рожей с последующим развитием (1 р и 2 р) либо отсутствием (1 о и 2 о) рецидива ($M \pm m$)

Показатель	Контроль (n = 28)	Группы обследуемых			
		1 р (n = 13)	1 о (n = 26)	2 р (n = 9)	2 о (n = 18)
ГПЛ (мкм/мл)	8,98 ± 0,7	11,3 ± 0,09	10,7 ± 0,2	12,1 ± 0,4	12,1 ± 0,3
	p ₁ *	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	p ₂	< 0,01	< 0,01	> 0,05	> 0,05
МДА (мкм/мл)	3,56 ± 0,1	4,9 ± 0,1	4,0 ± 0,1	4,8 ± 0,2	4,6 ± 0,2
	p ₁	< 0,001	> 0,05	< 0,001	< 0,001
	p ₂	< 0,01	< 0,01	> 0,05	> 0,05
АОА (усл. ед)	0,622 ± 0,009	0,489 ± 0,015	0,495 ± 0,018	0,345 ± 0,016	0,368 ± 0,02
	p ₁	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	p ₂	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
ИЛ 1-β (пг/мл)	22,5 ± 3,4	25,3 ± 2,5	24,9 ± 2,8	27,0 ± 2,6	26,5 ± 1,8
	p ₁	< 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05
	p ₂	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
ФНО-α (пг/мл)	35,9 ± 0,5	45,7 ± 0,8	36,2 ± 0,6	40,0 ± 2,8	42,5 ± 1,8
	p ₁	< 0,001	> 0,05	< 0,01	< 0,001
	p ₂	< 0,001	< 0,001	> 0,05	> 0,05

Примечание. * p₁ – достоверность различий с показателями контрольной группы; p₂ – достоверность различий в зависимости от исхода заболевания: показателей 1р и 1о групп и показателей 2р и 2о групп.

2 о), различий всех изучаемых показателей в зависимости от отдаленного исхода не установлено.

Исходя из этого, можно предположить, что сохранение высоких концентраций продуктов ПОЛ (ГПЛ и МДА) и цитокина ФНО- α свидетельствует о хронизации воспалительного процесса в дерме, и их исследование в динамике первичного рожистого процесса имеет прогностическую ценность в отношении развития ранних рецидивов заболевания.

Результаты сравнения клинической картины у больных, леченных с применением циклоферона (ЦФ) (основная группа) с больными, получавшими только общепринятое лечение (группа сравнения), показали, что на фоне приема препарата происходило сокращение продолжительности астеновегетативного синдрома на 1,7 дня ($p < 0,001$), гиперемии на 1,2 дня ($p < 0,001$), инфильтрации на 1,4 дня ($p < 0,001$) и регионарного лимфаденита на 1,3 дня ($p < 0,001$). Вследствие этого длительность пребывания в стационаре больных, леченных ЦФ, сократилась, в среднем, на 1,8 дня ($p < 0,001$). Назначение препарата не влияло на продолжительность лихорадки и местного отека.

После лечения с использованием ЦФ наблюдалось достоверное снижение частоты последующих рецидивов (табл. 2). Рассчитан показатель САР равный 0,35 [0,19; 0,51], что указывает на снижение риска развития рецидивов при включении в комплексное лечение ЦФ на 19–51%.

Таблица 2

Отдаленные исходы заболевания		
Исследуемая группа	Рецидива нет (эффект есть)	Рецидив есть (эффекта нет)
Основная	33	3
Сравнения	29	22
$\chi^2 = 12,48; p < 0,001$		

Включение ЦФ в комплексную терапию первичной рожи влияло на динамические изменения показателей ПОЛ и провоспалительных цитокинов в организме больных. Так, у больных, леченных ЦФ, выявлено достоверно более выраженное снижение концентрации ГПЛ ($p < 0,001$), МДА ($p < 0,001$), и ФНО- α ($p < 0,001$) в период реконвалесценции, чем у больных, получавших общепринятую терапию (табл. 3).

Таблица 3

Динамические показатели концентрации продуктов ПОЛ и ФНО- α в сыворотке крови у больных основной группы и группы сравнения ($M \pm m$)

Показатель	Контроль (n = 28)	Группы обследуемых			
		сравнения (n = 31)		основная (n = 34)	
		разгар	реконвалесценция	разгар	Реконвалесценция
ГПЛ мкм/мл	8,98 \pm 0,2	19,3 \pm 0,3	11,6 \pm 0,2	19,4 \pm 0,2	10,4 \pm 0,3
	p_1	< 0,001	< 0,001	< 0,01	< 0,01
	p_2	> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,01
МДА мкм/мл	3,56 \pm 0,1	11,3 \pm 0,09	4,9 \pm 0,1	9,7 \pm 0,2	3,8 \pm 0,1
	p_1	< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,05
	p_2	> 0,05	< 0,001	> 0,05	< 0,001
ФНО- α пг/мл	35,9 \pm 0,5	85,9 \pm 1,7	45,6 \pm 0,3	86,7 \pm 1,2	36,1 \pm 0,5
	p_1	< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,05
	p_2	> 0,05	< 0,001	> 0,05	< 0,001

П р и м е ч а н и е . * p_1 – достоверность различий с показателями контрольной группы; p_2 – достоверность различий показателей группы сравнения с основной (соответствующих одному периоду болезни)

Таким образом, применение ЦФ в комплексной терапии первичной рожи препятствовало формированию хронических очагов стрептококковой инфекции в коже. Механизм связан с активацией неспецифического звена иммунитета, нормализацией соотношения субпопуляций Т-лимфоцитов и иммунорегуляторного индекса, повышением продукции высокоаффинных антител В-лимфоцитами, что позволяет рекомендовать применение ЦФ в комплексном лечении первичной рожи с целью профилактики рецидивов, а также для уменьшения продолжительности как общей, так и местной симптоматики болезни.

Таким образом, для рецидивирующей рожи характерно преобладание среднетяжелого течения (80,6%) с развитием эритематозных форм (77,5%) и преимущественная локализация процесса на нижних

конечностях (84,8%). Клиническое течение рецидивирующей рожи отличается от первичной: по меньшей выраженности и продолжительности лихорадочного периода, большей продолжительности местных проявлений, редким развитием регионарного лимфаденита и лейкоцитоза, но более частым развитием лейкопении.

Показатели ПОЛ и провоспалительных цитокинов в период разгара рожистого процесса определяют тяжесть течения болезни, а в период реконвалесценции первичной рожи – ее исход. Сохранение высоких концентраций ГПЛ (11,3 \pm 0,09 мкм/мл), МДА (11,3 \pm 0,09 мкм/мл) и ФНО- α (45,7 \pm 0,8 пг/мл) в период реконвалесценции у больных первичной рожой являются прогностически неблагоприятными в плане развития ранних рецидивов.

З а к л ю ч е н и е . Применение препарата «Циклоферон» в комплексном лечении первичной рожи достоверно снижает частоту развития последующих рецидивов заболевания от 19 до 51%, уменьшает концентрацию токсичных продуктов ПОЛ (ГПЛ и

МДА) и провоспалительного цитокина ФНО- α , а также способствует уменьшению продолжительности основных синдромов заболевания, сокращая пребывание больного в стационаре.

© М.Г. Романцов, Ф.И. Ершов, Л.Г. Горячева, Т.В. Сологуб, А.Л. Коваленко, А. Ю Петров, 2008

© M.G. Romantsov, F.I. Ershov, L.G. Gryacheva, T.V. Sologub, A.L. Kovalenko, A. Yu. Petrov, 2008

ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЦИКЛОФЕРОНА, ПРИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ У ДЕТЕЙ

М.Г. Романцов¹, Ф.И. Ершов², Л.Г. Горячева³, Т.В. Сологуб¹, А.Л. Коваленко⁴,
А. Ю Петров⁴

¹Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия

²Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи
Российской академии медицинских наук, Москва, Россия

³Научно-исследовательский институт детских инфекций, Санкт-Петербург, Россия

⁴Научно-технологическая фармацевтическая фирма «ПОЛИСАН», Санкт-Петербург, Россия

«Наука может и должна
даровать людям счастливое существование»
И.И. Мечников

Романцов М.Г., Ершов Ф.И., Горячева Л.Г., Сологуб Т.В., Коваленко А.Л., Петров А.Ю. Фармакотерапевтическая эффективность Циклоферона при патологических состояниях у детей // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 69–77.

¹Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации», 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47 Тел. (812) 543–96–09, факс: (812) 140–15–24 Эл. почта: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

²Государственное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Российской академии медицинских наук, Россия, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18, телефон: 8-495-193-43-06.

³Научно-исследовательский институт детских инфекций, Санкт-Петербург

⁴Научно-технологическая фармацевтическая фирма «ПОЛИСАН», Санкт-Петербург

Р е з ю м е . В статье представлена самостоятельная группа препаратов, относящаяся к индукторам эндогенного интерферона, обладающая иммуностимулирующей активностью, дано определение группы. Описан механизм действия и представлена характеристика амиксина, изопринозина у которых интерферониндуцирующая активность является основной. Особое внимание уделено циклоферону, как наиболее изученному и безопасному препарату, широко применяемому в детской практике. Авторы представили классификацию индукторов интерферона, которая включает синтетические и природные соединения, у которых интерферониндуцирующая активность является основной. Это амиксин, полудан, циклоферон, группа полифенолов, представителем которой является кагоцел, ридостин, как представитель полимеров, и протефлазид, как представитель флавоноидов. Отдельно в классификации выделены иммуномодуляторы, обладающие вторичной интерферониндуцирующей активностью. Это группа Т-миметиков, иммуномодуляторов бактериального происхождения, вакциноподобные препараты, производные индола, растительные иммуномодуляторы. Замыкает классификацию группа препаратов различных фармакологических групп, которые также обладают вторичной интерферониндуцирующей активностью. Это метилксантины, производные изохинолина и хромона. В статье авторы показали, что индукция интерферона наблюдается у детей от 1-го года до 4-х лет как под воздействием антигенных раздражителей (вирусов), так и под влиянием лекарственных препаратов, в том числе и индукторов интерферона (в частности, циклоферона).

В статье представлен собственный материал авторов и данные литературы по фармакотерапевтической эффективности циклоферона. Описаны эффекты препарата при различных социально-значимых заболеваниях детского возраста. Это ОРВИ, бронхиальная астма, аллергические состояния, сопровождающиеся нарушением противомикробной защиты, микоплазменная инфекция, бронхолегочные осложнения при ОРВИ с низкой интенсивностью свободнорадикального окисления. Показано подавление аутоиммунных процессов, являющихся причиной поствакцинальных осложнений у часто болеющих детей, при использовании циклоферона на фоне плановой вакцинации. Представлены результаты применения циклоферона и

при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, и кишечных инфекциях, как вирусного, так и бактериального генеза. Предлагается применение циклоферона для коррекции дисбиоза кишечника, восстановление микрофлоры до уровня нормы отмечено у 95% детей. Описано применение препарата при хирургической патологии, в частности при аппендикулярном перитоните, с целью снижения послеоперационных осложнений, а также для коррекции иммунных нарушений при хроническом вирусном гепатите С и В у детей комбинированной терапии. Безопасность и эффективность циклоферона подтверждается проводимыми постмаркетинговыми исследованиями его эффективности.

К л ю ч е в ы е с л о в а : Циклоферон, фармако-экономическая эффективность.

Romantsov M. G., Ershov F.I., Gryacheva L.G., Sologub T.V., Kovalenko A.L., Petrov A. Yu. Cycloferon pharmacotherapeutic efficiency in children pathological states // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 69–77.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

State Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya of RAMS, Russia, 123098, Moscow, str. Gamaleya, 18, tel.: 8-495-193-43-0

Independent group of preparations belonging to the inducers of endogenous interferon and possessing immunotropic activity is described; definition of the group is given. The mechanism of action is described and amixin, isoprinosin characteristic is presented in which interferon-inducing activity is the main. Special attention is given to cycloferon, as the most studied and safe preparation widely used in pediatric patients. The authors have made interferon-inducers classification which includes synthetic and natural compounds in which interferon-inducing activity is the main. These are amixin, poludan, cycloferon, group of polyphenols of which kagocel is representative, ridostin, as the representative of polymers, and proteflazid, as the representative of flavonoids. Immunomodulators possessing secondary interferon-modulating activity are classified separately. This is a group of T-mimetics, immunomodulators of bacteriemic origin, vaccine-like preparations, indol derivatives, vegetative immunomodulating factors. The last in the classification is the group of preparations of different pharmacologic groups which also possess secondary interferon-inducing activity. These are methylxanthines, derivatives of isoquinoline and chromen. The authors have shown, that interferon induction is observed in children from 1 to 4 years of age both under the influence of antigenic stimuli (viruses), and under the influence of medicines, including interferon inducers (cycloferon, in particular).

The data obtained by the authors and literary data on cycloferon pharmacotherapy efficiency is presented in the article. Effects of the preparation are described in various socially-significant children diseases. These are ARVI, bronchial asthma, allergic states accompanied by disturbance of anti-infectious protection, mycoplasmic infection, pulmonary-bronchial complications of ARVI with low intensity of free radical oxidation. Depression of autoimmune processes which are the cause of postvaccinal complications in children, who are often ill, is shown at the use of cycloferon on the background of the planned immunization. The results of cycloferon use in gastrointestinal diseases and intestinal infections both of viral and bacteriemic genesis are presented. Cycloferon is recommended for the correction of intestinal dysbiosis; microflora restoration to normal level was registered in 95% of children. Preparation use in surgical pathology, in appendicular peritonitis in particular, with the aim of reducing postoperative complications and for the correction of immune disorders in chronic virus hepatitis C and B in children undergoing combined therapy is described. Cycloferon safety and efficiency is proved by the realized post marketing researches of its efficiency.

Индукторы интерферона – представляют собой семейство высоко- и – низкомолекулярных природных и синтетических соединений, стимулируют пролиферацию, дифференцировку клеток костного мозга, используя механизмы естественного (врожденного) и адаптивного иммунитета. **Индукторы интерферона**, можно рассматривать, как самостоятельный класс гетерогенных природных и синтетических соединений, которые способны «включать» систему интерферона, вызывая в клетках организма синтез собственных (эндогенных) интерферонов [7, 11, 12].

Индукторы интерферона обладают универсально широким диапазоном фармакологической активности с выраженным иммуномодулирующим эффектом. **Иммуномодуляторы** успешно используются для терапии широкого круга вирусных заболеваний. Одним из обязательных условий применения иммуномодуляторов является определение механизма действия препарата, «точки приложения» его в системе иммунитета. [13, 14].

Общие принципы применения иммуномодуляторов [9, 35–38]:

- Иммуномодуляторы назначаются в комплексной терапии одновременно с другими лекарственными препаратами;

- Целесообразно раннее назначение иммуномодуляторов, с первого дня применения этиотропного средства;

- Иммуномодуляторы, действующие на фагоцитарное звено иммунитета, можно назначать без учета иммунного статуса пациента, поскольку основанием для назначения препарата является клиническая картина заболевания;

- Иммуномодуляторы применяются в режиме монотерапии при проведении иммунореабилитационных мероприятий, в частности, при неполном выздоровлении после перенесенного острого инфекционного заболевания;

- Изменение одного какого-либо параметра при иммунодиагностическом обследовании не является основанием для назначения иммуностропного препарата;

- Иммуномодуляторы целесообразно применять на фоне иммунологического мониторинга, который следует проводить вне зависимости, выявлены или нет изменения в иммунной системе.

При индукции интерферона образуется смесь $\alpha\beta$ и $\alpha\beta\gamma$ -эндогенных интерферонов, что зависит от химической структуры индуктора. В зависимости от времени продукции ИФН в крови различают индукторы раннего (4–8ч) и позднего (18–24ч) ИФН. Повторное введение (при несоблюдении пика продукции ИФН) одного и того же индуктора интерферона вызывает феномен гипореактивности (рефрактерности) – невозможность стимуляции продукции ИФН, которая преодолевается введением другого индуктора или комбинацией их. К ранним индукторам ИФН – 1 типа отно-

сятся циклоферон (меглумина акридоацетат) (8ч) и ридостин (4 ч), а вот поздние индукторы ИФН – 1 типа – кагоцел (48–72ч), амиксин (18ч), изопринозин (24ч,96ч). К смешанному типу индукторов следует отнести изопринозин, после введения препарата пик продукции αИФН наблюдается на 24часах, а на 96часах от момента его введения – пик продукции γИФН. Циклоферон обеспечивает пик продукции γ ИФН на 4часах от момента введения препарата при дозе 500 мг, а на 8 часах – пик продукции α ИФН при дозе 250 мг. IFN-γ – продукт активированных Т лимфоцитов и NK-клеток. Ген ИФН-гамма локализован на 12 хромосоме. Рецептор IFN-γ взаимодействует с регулятором STAT-1 и протеинкиназами, транспортируется в клеточное ядро, связывается с регуляторными генами, формируется клеточная защита, включением синтеза IL-12-важного партнера IFN-γ в противостоянии вирусам и бактериям, обеспечивая их эрадикацию.

Продукция ИФН может быть индуцирована вирусными агентами и/или вирусами – слабыми индукторами, требующими ответа по Th1-типу. Экспрессия ИФН ограничена ДС-клетками, ИФН вместе с IL-12, увеличивает продукцию ИФН-гамма CD4-CD8-лимфоцитами, индуцируя ответ по Th1 типу. При инфицировании вирусами, способными к выраженной стимуляции продукции ИФН С, снижается продукция IL-12, IFN-γ –NK-клетками. Индуцируется ответ CD8лимфоцитов со стимуляцией NK-токсичности, обеспечивая противовирусную защиту [12, 15].

Индукторы интерферона (табл. 1), за исключением **имиквимода** (в России незарегистрирован), созданы отечественными учеными.

Индукторы интерферона не обладают антигенностью, синтез эндогенного интерферона сбалансирован, контролируется организмом, что предотвращает побочные эффекты. Ведущую роль в защите против вирусов играют интерфероны 1-го и 2-го типа (ИФН-альфа/бета и ИФН – гамма). Неодинаковая способность индуцировать интерферон связана с особенностями иммунопатогенеза у детей. Иммунный ответ при вирусных инфекциях у детей реализуется в четырех вариантах [10], различающихся выраженностью и динамикой неспецифической иммуномодуляции и уровнем продукции цитокинов (ИФН-альфа/бета и гамма), специфического антителообразования.

В исследованиях Е.Н. Вершининой (2006) [4] показаны отличия по уровню концентраций альфа – и гамма-интерферона в крови детей (в возрасте от 7 месяцев до 3-х лет), переносящих ОРВИ на фоне герпесвирусного инфицирования, от больных с респираторной инфекцией без герпесвирусного инфицирования. Так, у больных с герпесвирусным инфицированием уровень альфа-интерферона ниже, чем в группе детей без герпесвирусного инфицирования. В исследованиях, проведенных Коровиной Н. А.¹,

Таблица 1

Классификация индукторов интерферона
Ершов Ф.И., Романцов М.Г., Петров А.Ю., Коваленко А.Л. (2008)

Химическая природа	Препарат (коммерческое название)
А. Синтетические соединения с основной интерферониндуктивной активностью	
Низкомолекулярные: Флуореноны Акриданоны Олигопептиды Производное имидазо (4,5-С) квинолина	Амиксин Циклоферон Аллокин Имиквимод (альдара)
Полимеры (дс-РНК)	Полудан Полигуацил
Б. Природные соединения с основной интерферониндуктивной активностью	
Полифенолы	Кагоцел Мегосин Саврац Рагосин Гозалидон
Полимеры (дс-РНК) Производные флавоноидов и аминокислот	Ридостин; Ларифан Протефлазид
В. Иммуностропные препараты с вторичной интерферониндуктивной активностью	
Т-миметики	Тимоген Тактивин Изопринозин (гропринозин) Иммунофан
Иммуномодуляторы бактериального происхождения – эубиотики	Лактобактерин Биоспорин
Вакциноподобные препараты	Бронхомунал Рибомунил ИРС-19 Уроваксом
Липополисахариды	Пирогенал Продигиозан
Производные нуклеиновых кислот	Натрия нуклеинат
Препараты пурина и пиримидина	Метилурацил Пентоксил
Производные бензимидазола Производные индола	Дибазол Арбидол
Растительные иммунокорректоры	Родиола розовая Гексал (экстракт эхинацеи)
Г. Препараты других фармакологических групп с вторичной интерферониндуктивной активностью	
Метилксантины	Теofilлин Эуфиллин Дипиридамол (курантил) Кофеин
Производные изохинолина	Папаверин Ношпа
Производные бензофурана	Кордарон
Производные хромена	Интеркордин

¹ (Коровина Н. А. 7-8 октября 2003 года г. Киев Конгресс педиатров «Актуальные проблемы развития педиатрии на современном этапе»).

изучалась экспрессия рецепторов к интерферону на иммунокомпетентных клетках. При нормальной экспрессии не изменяется чувствительность к препаратам интерферона, в то время как повышенная экспрессия сопровождается снижением чувствительности к препаратам интерферона. Таким образом, далеко не у всех детей препараты интерферона могут быть эффективны.

В исследованиях Минаевой Н.В. (2006) проведена оценка уровня цитокинов (ИЛ-1, ИФН-гамма, ИЛ-4) у 392 детей с аллергической патологией дошкольного возраста. Показано повышение их концентрации выше нормы, что отражает сочетание аллергического и инфекционного воспаления [19].

Москалевой Е.В. (2007) исследован уровень гамма-интерферона (ИФН-гамма) у детей старше 2-х лет при ВИЧ-инфекции с перинатальным инфицированием. Показано увеличение продукции ИФН-гамма и снижение уровня ИЛ-4 под влиянием терапии (**циклоферон+гриппозная инактивированная вакцина**), указывая на активацию Th1 – ответа, являясь благоприятным фактором течения ВИЧ-инфекции [21].

Таким образом, отмечается индукция интерферонов у детей в возрасте до 4-х лет, под воздействием как антигенного раздражителя (вирус), так и под воздействием лекарственных средств, включая и индукторы интерферона, в т. ч., и **циклоферон**. В связи с чем, представляется закономерным изучение индукторов интерферона 1 типа, целесообразность использования которых определяется их способностью к одновременной индукции и интерферона 2 типа (гамма-ИФН). Наиболее безопасным в детской практике, является **циклоферон (меглюмина акридонацетат, метилглюкамина акридонацетат)**. Препарат вошел в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств (распоряжение Правительства РФ № 376-р от 29 марта 2007г.), включен в стандарт лечения больных гриппом, в том числе птичим гриппом, хроническим вирусным гепатитом, ВИЧ-инфекцией и туберкулезом (приказы Минздравсоцразвития России № 460 от 7.06.06; № 572 от 21.07.06, № 612 от 17.08.2006; № 571 от 21.07.06).

Основным достоинством **циклоферона** является его полифункциональность – сочетание широкого спектра фармакологических эффектов, что позволяет рассматривать препарат в качестве средства и профилактики, и лечения детей различных «групп риска». Продукция интерферонов, под воздействием **циклоферона in vivo**, обусловлена наличием клеточных систем, способных синтезировать интерферон в ответ на индуктор и возможностью клеток-продуцентов «встретиться» с индуктором. Взаимодействие клеток иммунной системы при индукции ИФН *in vivo* приводит к выделению клетками цитокинов, усиливая, либо подавляя процесс их синтеза.

При действии различных вирусных агентов и **циклоферона** индуцируется целый каскад сигналов, которые задействуют «цитокиновую сеть» организма. Известно, что характер иммунного ответа зависит от до-

минирующего участия клонов CD4+ Th1- и 2-ого типа, которые различаются по продукции цитокинов при развитии иммунного ответа. Активация Th1, продуцирующих ИФН-γ, ИЛ-2 и ФНО-α ведет к стимуляции функции Т-лимфоцитов и макрофагов и развитию иммунного ответа по клеточному типу, который играет решающую роль в противовирусной защите. Одним из важных направлений формирования полноценного иммунного ответа является регуляция синтеза ИФН-γ. Продукция ИФН-γ Th1 осуществляется благодаря стимуляции ИФН-γ-индуцирующих цитокинов (ИЛ-12, ИЛ-2 и ФНО-α). ИЛ-18, являясь потенциальным индуктором синтеза ИФН-γ, выступает в роли синергиста ИЛ-12, лидируя в быстрой активации моноцит/макрофагальной системы посредством стимуляции ИФН-γ, который стимулируется при действии **циклоферона** [12, 14, 30].

Аномальные (дефектные) вирусы обнаружены практически у всех инфекционных и онкогенных вирусов животных и человека; образуются в процессе внутриклеточного цикла развития вирусов и / или под действием различных экзогенных воздействий (химических, физических и биологических). В ряде случаев размножение вирусов подавляется дефектными частицами, которые известны как дефект-интерферирующие частицы (ДИ-частицы), препятствующие нормальной репродукции вируса, подавляя его цитотоксическое действие. Накопление ДИ-частиц в инфицированном организме, под воздействием циклоферона, приводит к самоограничению инфекции, но при этом, дефектные частицы сохраняют цитокин- и интерферон (ИФН) -индуцирующие свойства, стимулируя неспецифический иммунитет [11, 12].

Показан saniрующий эффект циклоферона, в отношении условно-патогенной микрофлоры кишечника с нормализацией показателей клеточного иммунитета и иммуноглобулина А (**при комбинированном применении циклоферона и биовестин-лакто**), что способствовало снижению повторных ОРВИ и их осложнений с увеличением числа детей, не болевших ОРВИ, в течение 6 месяцев после приема препаратов [25, 26].

И.В. Сарвилина [цит. по 30] наблюдала снижение (в 4.1 раза) частоты ОРВИ и уменьшение (в 1.7 раза) длительности обострения, и уменьшение (в 4.6 раза) частоты развития аллергии. Исследованиями Е.П. Сельковой [31] показана эпидемиологическая эффективность **циклоферона** [(индекс эффективности 2.9 при колебаниях от 2.4 до 3.4, при показателе защиты от 58.5 до 67.1%)], снижение (в 2.9 раза) аболетаемости ОРВИ. У больных ОРВИ, осложненной лакунарной ангиной нормализация температуры (первые 48 часов) отмечена у 88% больных, против 24% пациентов, получавших антибиотики. О.Г. Шульдякова, М.Г. Романцов (2007) отметили снижение (в 2,4 –4,4 раза) заболеваемости ОРВИ в организованных коллективах, как у детей, так и у подростков. При проведении курса **циклоферона** наблюдалась смена структуры ОРВИ среди заболевших, увеличивались

легкие, уменьшались тяжелые и осложненные (в 4,3 и более раза) формы заболеваний. Использование **циклоферона** для экстренной профилактики ОРВИ обосновано экономическим критерием «затраты-эффективность» [24, 28, 29, 38].

В.В. Ботвиньева наблюдала уменьшение (в 1.4 раза) числа обострений бронхиальной астмы и частоты ОРВИ (в 2 раза) у детей, больных бронхиальной астмой [27]. И.И. Балаболкиным показано, что содержание IFN- γ коррелирует со степенью тяжести аллергической патологии, отмечено повышение чувствительности клеток к кортикостероидам в его присутствии. Индукторы интерферонов стимулируют выработку собственных интерферонов, не обладающих антигенной активностью. Вместе с IL-4, IFN- α и IFN- γ участвуют в регуляции синтеза IgE: если IL-4 активирует его продукцию, то IFN- α и IFN- γ ингибируют синтез IgE. Клинический эффект от курсовой терапии циклофероном в комплексной терапии бронхиальной астмы составил 71% и продолжался в течение полугода после окончания терапии. Применение циклоферона достоверно повышает способность лейкоцитов к синтезу IFN- α и IFN- γ в среднем в 2 раза [2].

В исследованиях М.В. Гаращенко число заболевших детей, среди получавших **циклоферон**, составило 6%, против 58%, не получавших неспецифических препаратов [5]. **Циклоферон** снижал интоксикацию, выраженность и продолжительность катаральных явлений со стороны верхних дыхательных путей. Отмечено цитопротективное действие на слизистую оболочку полости носа, снижение степени деструкции плоского и цилиндрического эпителия, повышение содержания лизоцима, увеличение синтеза s-IgA. Защитное действие препарата сохранялось в течение 6 месяцев [26].

Микоплазменная инфекция особенно актуальна в развитии не только острых воспалительных процессов верхних и нижних дыхательных путей, но и в формировании рецидивирующих и хронических заболеваний органов дыхания. Исследование Е.Г. Королевой [18] показало, что при включении **циклоферона** в терапию микоплазменной инфекции сокращается лихорадочный период, интоксикация, уменьшается длительность катарального симптома, бронхиальная обструкция (в среднем на 3–1.6 дней). Минимизация клинической симптоматики происходит на фоне усиления макрофагальной активности, активации синтеза интерферона (в 1.5–1.9 раз), снижения уровня TNF, нарастания концентрации иммуноглобулина А, включая и секреторный его компонент у 67–87% пациентов, что особенно важно для детей, имеющих в анамнезе аллергопатологию.

Н.В. Минаевой [19] изучены особенности аллергопатологии у детей с синдромом нарушения противомикробной защиты и разработана схема лечебно-реабилитационных мероприятий с учетом этиоиммунопатогенетических принципов. Применение **циклоферона** в комплексе с **ацикловиром** у детей с аллергической патологией с синдромом нарушения противомикробной

инфекционной защиты снижало (в 1.7 раза) острую заболеваемость, уменьшало риск рецидивирования хронической герпесвирусной инфекции и долю детей с ЛОР-патологией в 1.9–2.6 раза, нормализуя измененные показатели иммунитета.

У детей раннего возраста нарушения иммунного реагирования обусловлены инфицированием вирусом простого герпеса (1 и 2 типы), цитомегаловирусом. Под наблюдением Е.Н. Вершининой [4] находились дети с ОРВИ (грипп, парагрипп, аденовирус, РС-вирус) и отягощенным преморбитным фоном. Частота выявления антител к герпесвирусам составила 77.4%. Применение **циклоферона** способствовало гладкому течению постинфекционного периода, предотвращало развитие осложненных форм, нормализовался иммунный ответ, что обеспечило купирование общеинфекционного синдрома. Е.И. Красновой, на основании углубленных исследований установлено, что больным инфекционным мононуклеозом противопоказана иммуностимулирующая терапия с применением тималина, Т-активина и других иммуномодуляторов. Неуместно также применение препаратов, содержащих высокие дозы цитокинов (ронколейкин, нейпоген), поскольку они приводят к значительному усилению пролиферации иммунокомпетентных клеток. Применение циклоферона не приносит вред организму, поскольку он инициирует в организме выработку гамма-IFN столько, сколько нужно для иммуномодуляции. Его можно назначать с первых дней болезни, определение низкого уровня IFN-гамма в первые дни заболевания является убедительным аргументом в пользу положения, согласно которому терапия циклофероном вполне оправдана при инфекционном мононуклеозе. Наблюдаемое усиление экспрессии HLA DR – молекул на фоне лечения циклофероном способствует повышению эффективности антигенспецифического ответа, что приводит к снижению репродукции вируса, способствует сокращению длительности лихорадки, снижению рецидивов заболевания. Препарат позволяет существенно сократить назначение антибактериальной терапии, способствуя снижению побочных эффектов [17].

При бронхолегочных осложнениях у больных ОРВИ с низкой интенсивностью свободнорадикального окисления применение **циклоферона** обеспечивало нормализацию АКТГ и кортизола, рост в 3 раза ТТГ. У детей с высокой интенсивностью свободнорадикального окисления (неосложненные ОРЗ) применение **циклоферона** приводит к нормализации уровня кортизола, поддержание на границе нижней нормы концентраций ТТГ и Т₃. При бронхолегочных осложнениях на фоне высокой интенсивности СРО **циклоферон** нормализует уровень кортизола, активность АКТГ повышается в 2 раза, снижая в 3 раза уровень соматотропного гормона (СТГ). При этом **циклоферон** обеспечивал легкое течение заболевания без развития осложнений, быстрое купирование симптомов инфекции (лихорадки и интоксикации) [25].

Вакцинация часто болеющих детей (**в возрасте $1,76 \pm 0,35$ лет**) с рецидивирующими заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей проведена **дивакциной против кори и паротита, с применением 12.5% раствора циклоферона** [25]. В 91.5% случаев течение поствакцинального периода было гладким. Иммунологические изменения проявлялись увеличением числа CD16+, что обеспечило гладкое течение вакцинального процесса и CD25+ клеток, что определило интенсивность антителообразования при ревакцинации. Снижение ЦИК и увеличение количества CD95+ клеток привело к подавлению аутоиммунных механизмов, которые являются причиной поствакцинальных осложнений.

Включение циклоферона в состав комплексной терапии серозных менингитов приводило к быстрому исчезновению клинических симптомов, нормализовало показатели местного, способствовало снижению маркеров воспаления в ЦСЖ, крови. Циклоферон сокращал продолжительность симптомов интоксикации и менингеального синдрома при асептическом менингите, обеспечивал более быструю санацию ликвора, стабилизировал уровень цитокинов (IFN-гамма и IL4), играющих важную роль в формировании ранней и полноценной противовирусной защиты организма.

При вирусных энцефалитах у детей, получавших циклоферон, наблюдался регресс очаговой неврологической симптоматики, в случае раннего начала терапии формировался минимальный органический дефицит. У больных с бактериальным менингитом, получавших циклоферон, обратное развитие субдурального выпота происходило на фоне консервативной терапии, тогда как у детей, получавших стандартную терапию, в половине случаев прибегали к дренированию субдурального пространства [22, 32].

В структуре заболеваний органов пищеварения доминируют воспалительные поражения верхних отделов желудочно-кишечного тракта (хронический эзофагит, гастроудоденит, гастрит). В большинстве случаев, впервые возникшая у детей патология верхних отделов ЖКТ приобретает непрерывно рецидивирующее и хроническое течение. Школьники с верифицированными заболеваниями ЖКТ, а также с жалобами гастроэнтерологического характера имеют высокий риск активации герпесвирусной инфекции. Дети школьного возраста с хроническими заболеваниями желудочно-кишечного тракта, ассоциированными с хронической ВПГ-инфекцией, нуждаются в целях интенсификации базисной терапии в проведении курсов этиотропного противовирусного лечения. Ацикловир в сочетании с циклофероном обеспечивал снижение (в 2,5 раза) длительность обострений, а в 4 раза титров противогерпетических антител, обеспечивая ликвидацию инфекционного процесса и сохранение ремиссии [8].

Исследованиями Т.М. Ошевой показано, что применение циклоферона в комбинации с питательной смесью «нутрикомп адн браун», обогащенной пребиоти-

тиками, у детей с патологией верхних отделов органов пищеварения нормализует баланс секреторного иммуноглобулина А, нормализует кислотообразующую функцию желудка. О.К. Ботвиньевым у детей с гастродуоденальной патологией (язвенная болезнь, хронические и эрозивные гастродуодениты) при использовании циклоферона эффективность лечения увеличилась на 20%. Наблюдалось купирование болевого абдоминального синдрома, исчезновение изжоги, рубцевание язв, заживление эрозий, уменьшение воспалительных явлений в гастродуоденальной зоне. Обострение заболевания у лиц, получавших циклоферон, наблюдалось в 6%, против 18.5% случаев в группе сравнения [23, 26].

Этиотропная терапия вирусных кишечных инфекций у детей остается не разработанной. При внедрении патогена в организм происходит снижение иммунорезистентности, нарушаются процессы переваривания и всасывания, возникает транзиторный иммунодефицит с развитием интерферонодефицита, обуславливая затяжное и хроническое течение кишечных инфекций. Включение циклоферона привело к более легкой форме течения заболевания и укорочению продолжительности основных клинических его проявлений (интоксикации, лихорадки, катаральных явлений, диареи, болей в животе, метеоризма). У детей, получавших циклоферон, отмечено снижение (в 7.1 раз) ротавирусного антигена на фоне стимуляции (в 2.9 раза) противовирусных антител, обеспечивая выздоровление. Среди бактериальных кишечных инфекций особое внимание привлекают шигеллы, обладающие высокими инвазивными и патогенными характеристиками. Сегодня доминируют штаммы Флекснер 2а и 3а, поэтому клиника заболевания характеризуется преобладанием средне тяжелых и тяжелых форм инфекции, наблюдается выраженный интоксикационный синдром, формируется длительное бактериовыделение. Тяжесть течения инфекции, исход обусловлены состоянием неспецифической резистентности макроорганизма, его специфическим иммунным ответом и метаболическими сдвигами. О.В. Тихомирова, с целью предотвращения негладкого течения заболевания, включала в комплексную терапию шигеллез циклоферон. У 12.8% больных, получавших антибактериальную терапию, продолжалось повторное выделение возбудителя. После применения этим детям циклоферона наблюдалась 100% санация организма от возбудителя. У больных с дизентерией и сальмонеллезом, получавших циклоферон, микробиологическая санация наступала в 90.3% случаев [25, 33]. Уже на 3 день у 86% больных полностью исчезали проявления токсикоза. Нормализация стула и клиническое выздоровление на 5–6 день наступило у 89% (в группе сравнения – у 20%), а на 7–8 день – у всех клиническое выздоровление и полная санация от возбудителя. На 7–10 день от начала лечения регистрировалось увеличение индигенной анаэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры, элиминация условно-патогенной микрофлоры. Выявлено досто-

верное увеличение уровня неспецифического секреторного IgA в копрофильtrate. Установлена прямая корреляция между уровнем адгезивной активности и длительностью персистенции сальмонелл. Циклоферон опосредованно оказывал ингибирующий эффект на колонизационную (антагонизм, гидрофобность и адгезивность) и персистентную (ДНК-азную и антилизозимную) активность сальмонелл, что способствовало быстрой (к 5–7 дню) санации организма от возбудителя у всех больных.

В острый период дизентерии Флекснера включение циклоферона в комплексную терапию способствовало активации иммунного ответа. Повышался уровень CD8⁺ и CD20⁺ лимфоцитов, активация продукции специфических IgA и неспецифических IgM. Циклоферон оказывал стимулирующее влияние на клеточное звено иммунитета, о чем свидетельствовал более высокий уровень бласттрансформации лимфоцитов на фитогемагглютинин. При использовании циклоферона у всех больных имело место гладкое течение заболевания, отсутствие повторного бактериовыделения. При обычной терапии – 12,8% больных выделяли шигелл повторно.

При изучении клинико-иммунологических особенностей иерсиниозной инфекции установлено [25, 33], что у больных с острым течением в фазу реконвалесценции в фенотипическом составе лимфоцитов выявлено только увеличение числа В-лимфоцитов, а повышенное содержание CD25⁺ и CD95⁺ лимфоцитов сопряжено с высокой пролиферативной активностью Т-лимфоцитов. Острое течение характеризовалось ранним и высоким антительным ответом. Прогностически неблагоприятными признаками негладкого течения были малосимптомные варианты заболевания, начало инфекции с изолированного абдоминального синдрома или с поражения печени. Включение индуктора эндогенного интерферона – циклоферона (6–10 мг/кг per os 1 раз в сутки в 1, 2, 4, 6 и 8 дни) – в терапию острых форм псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза приводило к сокращению продолжительности основных клинических симптомов и предупреждало развитие негладкого течения заболевания. Применение циклоферона (10 мг/кг в/м 1 раз в сутки курсом 2–3 дня) у больных ротавирусной инфекцией приводило к укорочению острого периода, достоверному увеличению концентрации α - и γ -ИНФ, а также стимуляции синтеза специфических антител против ротавируса, что способствовало быстрой санации кишечника от ротавируса. Назначение циклоферона, стимулирующего выработку α -ИНФ, было эффективным как у детей с низким антительным ответом в первые дни заболевания за счет стимуляции системного и локального антителообразования, так и у больных с высоким уровнем антител посредством стимуляции интерферогенеза. В период реконвалесценции ротавирусный антиген выявлялся лишь в 9,3% случаев, в контроле – у 40% больных. Клиническая эффективность циклоферона при ротавирусной инфекции ус-

тановлена и при использовании его в таблетках по схеме: 1, 2, 4, 6, 8 дни в возрастных дозировках [20, 25, 33].

Краснова Е.И. показала целесообразность применения циклоферона в комплексной коррекции дисбиоза кишечника у детей раннего возраста (уровень микрофлоры кишечника восстановился до нормы у 95% пациентов, а число условно-патогенной микрофлоры сократилось в 12 раз) [25].

Острый перитонит представляет серьезную хирургическую проблему. Частота перитонита при остром аппендиците в детском возрасте составляет от 6 до 50%. Сохраняется возможность летального исхода (0,7–23%) в зависимости от возраста и достаточно высокий (до 30%) риск развития послеоперационных осложнений. Белякова А.В. (2006) провела коррекцию нарушений иммунитета у детей с распространенным аппендикулярным перитонитом, используя циклоферон. Наблюдалось устранение дефектов Т-клеточного звена иммунитета, уменьшение степени эндогенной интоксикации и послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений в 5,2 раза. Из послеоперационных осложнений (36,5%) у больных, получавших терапию антибиотиками, наиболее часто встречались инфильтрат брюшной полости (7%), воспалительный инфильтрат области послеоперационной раны (8,3%), спаечная непроходимость и продолжающийся перитонит (по 5,9%), абсцесс брюшной полости (4,7%). В группе больных, получавших циклоферон, лишь в 5,9% случаев выявлен воспалительный инфильтрат послеоперационной раны [1].

Л.Г. Горячевой [6] показано, что у детей в возрасте от 1 до 3 лет, больных ХВГ, независимо от этиологии гепатита, при любой степени цитолитической активности выявляется дефицит Т-клеток с фенотипом CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, повышенный синтез IgM, угнетение продукции цитокинов (IL-8, IFN- α), при активации синтеза IL-1 β и TNF α , а также IL-4. В фазе умеренной активности регистрировалось повышение индекса CD4/CD8, за счет превалирования Т-клеток CD4⁺, повышенный синтез IgG, сниженная продукция IgA и инверсия индекса IFN- γ /IL-4, обусловленная активацией продукции IL-4 и указывающая на наличие иммунного ответа типа Th2. Индукция IFN- α была высокой, после курса **интерала**, хотя его уровень у больных ХВГ С вдвое ниже, чем у больных ХВГ В. Положительный клинический эффект сопровождался активацией синтеза IFN-гамма и существенным сдвигом Th1/Th2 в сторону Th1. Положительный эффект **интерала** можно прогнозировать по исходно высокому в крови TNF- α и IL-1 β , наряду с повышенными концентрациями IgM, IgG и IgE. Содержание IL-4 может быть значительно выше «нормы», а супрессия выработки IFN- γ не должна быть чрезмерной. **Циклоферон** при хроническом вирусном гепатите В способствовал значительному снижению (в 4,1 раза) уровня TNF-альфа, повышению (в 7,1 раза) уровня интерферона-гамма, а также уровню интерферона-альфа в 20 раз. Клинический эффект от применения **цикло-**

ферона обеспечивался выраженной продукцией ИФН-гамма и ИЛ-1.

Из других индукторов интерферона, у которых интерферониндуцирующая активность является основной, и которые разрешены для использования в детской практике, на фармацевтическом рынке России присутствует **амиксин** – обладает противовирусным и иммуномодулирующим эффектами, ингибирует трансляцию вирусспецифических белков в инфицированных клетках, вследствие чего подавляется репродукция вируса. Препарат относится к индукторам позднего интерферона. У препарата описаны недостатки, к которым относятся относительно высокая токсичность, образование устойчивых молекулярных комплексов с ДНК, что требует осторожности при его длительном применении. Применяется в детской практике у детей старше 7 лет. Побочные явления – аллергические реакции, диспептические явления, кратковременный озноб. Противопоказания: гиперчувствительность, беременность, кормление грудью, возраст детей до 7 лет [11, 12]. **Изопринозин (инозинплекс, вируксан, метизопринол)** накапливается в органах, богатых лимфоидной тканью. Стимулирует образование позднего интерферона, динамика его продукции характеризуется 2 пиками, первый через 24 часа после введения и связан с продукцией интерферона – альфа. Второй пик – через 96 часов и связан с продукцией интерферон-гамма. Установлена его эффективность при ротавирусной и норовирусной инфекции у детей первого года жизни. У детей, получавших изопринозин, диарейный синдром «обрывался» через 1–3 дня от начала терапии, тогда как у детей, не получавших препарат нормализация стула наступала к 5 дню [30].

Преимущества индукторов интерферона. Препараты не оказывают антигенного действия, способствуют синтезу сбалансированного количества эндогенного интерферона, что предотвращает развитие побочных эффектов. Однократное введение приводит к длительной продукции эндогенного интерферона. Обладают уникальной способностью стимулировать синтез эндогенного интерферона в определенных органах и популяциях клеток. Низкая токсичность **циклоферона**, широкий спектр биологической активности, наличие иммуномодулирующей активности, хорошая растворимость в биологических жидкостях и способность легко выводиться из организма привлекают все больше исследователей, желающих изучать эти уникальные препараты.

Таким образом, список индукторов интерферона, иммуномодуляторов, разрешенных для применения в детской практике, постоянно расширяется, они занимают достойное место при лечении различных патологических состояний, улучшая качество медицинской помощи детскому населению.

Список литературы

1. Белякова А.В. Нарушения иммунитета и их коррекция у детей с распространенным аппендикулярным перитонитом // Автореф. дисс. к. м. н. – Челябинск. – 2006. – 21с..
2. Балаболкин И.И., Рылеева И.В., Булгакова В.А., Ляпунов А.В. и др. Терапевтическая эффективность индукторов синтеза интерферона при бронхиальной астме у детей, страдающих частыми острыми респираторными вирусными инфекциями // Материалы IV конгресса педиатров-инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей (диагностика и лечение)», Москва, 2005 г. – С. 28.
3. Венгеровский А.И. Противовирусные средства // Противомикробные, противовирусные и противопаразитарные средства. Издательство Томского университета. – 2002. – С. 222–257.
4. Вершинина Е.Н., Иванова В.В., Говорова Л.В. Терапевтическая коррекция иммунных расстройств при респираторных заболеваниях у детей с герпесвирусным инфицированием // Информационно-методическое письмо для врачей. – СПб, 2007. – 26 с.
5. Гаращенко М.В. Новые технологии в медикаментозной профилактике острых респираторных заболеваний у детей школьного возраста в условиях мегаполиса: Автореф. дисс. ... к. м. н. – М., 2007. – 21 с.
6. Романцов М.Г., Горячева Л.Г., Коваленко А.А. Современные медицинские технологии в лечении хронических вирусных гепатитов // Противовирусные и иммуностропные препараты в детской практике. – СПб, 2008. – С. 100–112.
7. Григорян С.С. Индукторы интерферона: итоги и перспективы // Интерферону – 50 лет: Материалы конференции. (Москва, 19–20 ноября 2007 г.). – М., 2007. – С. 66–72.
8. Дерюшева А.В., Львова И.И. Влияние инфекции, вызванной вирусами простого герпеса на соматическую патологию у детей школьного возраста. – СПб. – 2008. – 24 с.
9. Дранник Г.Н. Иммуностропные препараты // Клиническая иммунология и аллергология. – М. – 2003. – С. 320–391.
10. Железникова Г.Ф., Иванова В.В., Монахова Н.Е. Варианты иммунопатогенеза острых инфекций у детей. – СПб, 2007. – С. 45–80.
11. Еришов Ф.И., Романцов М.Г. Антивирусные средства в педиатрии. – М., 2005. – С. 112–132.
12. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). – Москва. – 2005. – С. 211–219.
13. Иммунология и аллергология / Под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова, А.В. Караулова. – М., 2006. – С. 99–102.
14. Иммуномодуляторы с противовирусной активностью: Учебное пособие с грифом УМО-639–2004 / под ред. М.Г. Романцова. – М., 2005. – 74 с.
15. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – СПб., 2008. – С. 23–46.
16. Кондратьева Е.И. Экстренная неспецифическая профилактика ОРВИ и гриппа препаратом циклоферон у детей в эпидемический период // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2005. – № 1. – С. 72–76.
17. Краснова Е.И. Особенности иммунного ответа при инфекционном мононуклеозе и подходы к иммуномодулирующей терапии // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2005. – № 1. – С. 76–82.
18. Королева Е.Г. Терапия респираторной микоплазменной инфекции у детей с отягощенным преморбидным фоном. – СПб, 2007. – 14 с.

19. Минаева Н.В. Особенности аллергической патологии у детей с синдромом нарушения противоинфекционной защиты: Автореф. дисс. ... д. м. н. – Пермь, 2006. – 44 с.
20. Михайлова Е.В., Левин Д.Ю. Применение препарата циклоферон в комплексной терапии кишечных инфекций ротавирусной этиологии у детей // Мат. III конгр. педиатров-инфекционистов «Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей». – М., 2004. – С. 154–156.
21. Москалева Е.В., Смирнова С.В., Петрова А.Г. Циклоферон при ВИЧ-инфекции у детей с перинатальным инфицированием. – СПб, – 2008. – 24 с.
22. Назарочкина О.В., Харченко Г.А. Вирусные менингиты у детей. Коррекция циклофероном нарушений в системе иммунитета: Информационно-методическое письмо для врачей. – СПб, 2008. – 22 с.
23. Ошева Т.М. Воспалительные заболевания верхних отделов пищеварительного тракта у детей: Информационно-методическое письмо для врачей. – СПб, 2007. – 24 с.
24. Применение циклоферона для экстренной профилактики ОРВИ в организованных детских и подростковых коллективах: Методические рекомендации № 23 Департамента здравоохранения Москвы / под редакцией Е.А. Дегтяревой. – М., 2008. – 24 с.
25. Противовирусная терапия инфекционных болезней детского возраста // Сборник научных статей. – М., 2006. – 79 с.
26. Применение циклоферона в педиатрической практике // Сборник научных статей. – СПб, – 2005. – 96 с.
27. Романцов М.Г., Ботвиньева В.В. Практика педиатра. Циклоферон. – СПб, 2005. – 14 с.
28. Романцов М.Г., Ботвиньева В.В., Шульдякова О.Г. Рациональная фармакотерапия часто болеющих детей. – СПб, 2006. – 115 с.
29. Романцов М.Г., Сологуб Т.В. Экстренная неспецифическая профилактика и лечение гриппа и ОРВИ: Лекция для врачей. – СПб, 2008. – 42 с.
30. Романцов М.Г., Горячева Л.Г., Коваленко А.Л. Противовирусные и иммуностимулирующие препараты в детской практике. – СПб, 2004. – 120 с.
31. Селькова Е.П. Профилактика респираторных заболеваний в период эпидемического подъема. – Москва. – 2003. – 30 с.
32. Серозные менингиты у детей: Сборник статей. – СПб, 2007. – 30 с.
33. Тихомирова О.В. Ротавирусная инфекция. Особенности клинического течения и тактика терапии: Учебное пособие. – СПб, 2005. – 80 с.
34. Романцов М.Г., Еришов Ф.И. Часто болеющие дети: современная фармакотерапия. – М.: Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2006. – 192 с.
35. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммуномодуляторы // Клиническая фармакология / под ред. В.Г. Кукеса. – М., – 2004. – С. 520–533.
36. Шабашова Н.В. Иммуностимулирующие средства: Лекции по клинической иммунологии. – СПб, 2002. – С. 105–120.
37. Юшков В.В. Иммунокорректоры. – Екатеринбург, 2002. – 255 с.
38. Шульдяков А.А., Петленко С.В., Романцов М.Г., Сологуб Т.В. Эффективность циклоферона при проведении экстренной профилактики ОРВИ в организованных коллективах: Методические рекомендации для врачей. – СПб, 2007. – 16 с.

© О.Д. Куликова, В.Г. Короткий, М.Г. Романцов, 2008

© O.D. Kulikova, V.G. Korotky, M.G. Romantsov, 2008

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИ ОБОСНОВАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ РЕАМБЕРИНА В ТЕРАПИИ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА У ДЕТЕЙ

О.Д. Куликова, В.Г. Короткий, М.Г. Романцов

*Российский государственный медицинский университет Росздрава, Москва, Россия
Научно-технологическая фармацевтическая фирма «ПОЛИСАН», Санкт-Петербург, Россия*

Куликова О.Д., Короткий В.Г., Романцов М.Г. Патогенетически обоснованное применение реамберина в терапии atopического дерматита у детей // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 77–79.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУВПО РГМУ Росздрава), Россия, 117869, Москва; ул. Островитянова, д. 1, тел.: 8 (495) 434-14-22.

Научно-технологическая фармацевтическая фирма «ПОЛИСАН», Санкт-Петербург, Россия

Kulikova O.D., Korotky V.G., Romantsov M.G. Patogenetically proved reamberin use in therapy of children atopical dermatitis // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 77–79.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Russian State Medical University of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», Russia, 117869, Moscow; Ostrovityanova str., h. 1, phone.: 8 (495) 434-14-22.

Проблема лечения atopического дерматита у детей актуальна, а социальная ее значимость обусловлена увеличением общего числа боль-

ных, а также недостаточной эффективностью терапии. Сегодня гипотеза аллергического патогенеза заболевания является наиболее распространенной.

Фактором, играющим важную роль, в аллергическом воспалении кожи является, состояние микроциркуляторного русла, гемореологические свойства крови. Замедляется доставка в кожу кислорода, субстратов окисления, накапливающиеся продукты тканевого метаболизма.

Гипоксическое состояние активизирует процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), универсального механизма повреждения клеток, обеспечивающего истощение антиоксидантного потенциала организма. Активация ПОЛ ведёт к нарушению центральных механизмов регуляторных систем, развитию метаболического ацидоза, гипоксии, что является одной из причин, вызывающей воспалительный процесс кожных покровов.

Применение известных антиоксидантов, как прямого, так и не прямого действия у больных атопическим дерматитом ограничено, вследствие нарушения всасывания в кишечнике, возникновения аллергических реакций, как на препараты, так и их метаболиты, плохой проницаемости большинства из них через биологические мембраны.

В связи с этим, является перспективным, использование производных янтарной кислоты, в частности реамберина, обладающего двойной направленностью (антигипоксанта/антиоксиданта) в терапии атопического дерматита у детей. Основной механизм действия состоит в прямом воздействии на клеточный метаболизм за счёт «монополизации дыхательной цепи» митохондрий. Биологический смысл заключается в быстром ресинтезе клетками АТФ и повышении их антиоксидантной резистентности. В условиях гипоксии повышается НАД зависимый транспорт свободного кислорода, восстанавливаются НАД-зависимые дегидрогеназы, нормализуя энергетический баланс митохондрий, стабилизируя их структуру и функциональную активность, устраняя тканевую гипоксию и метаболический ацидоз.

Под наблюдением О.Д. Куликовой и И.Г. Короткий (РГМУ) находилось 112 детей, страдающих атопическим дерматитом, в возрасте от 10 до 15 лет, с давностью заболевания от 2,5 до 14,5 лет. Среди них был 41 мальчик и 71 девочка. У всех детей заболевание носило упорный, хронически-рецидивирующий характер. Среди наблюдаемых детей у 25 была эритемо-сквамозная форма, у 55 – эритемо-сквамозная с лихенификацией, у 32 больных – лихеноидная форма атопического дерматита.

Проведена комплексная оценка состояния кислородного режима в очагах поражения и в непораженной коже. Обнаружено в 1.1 раза снижение исходного напряжения кислорода, как в очагах поражения, так и в непораженной коже, в сравнении со здоровыми детьми. Скорость потребления кислорода в очагах поражения была выше, чем у здоровых детей. Факт высокого потребления кислорода предполагает высокую чувствительность пораженной кожи к его недостатку, свидетельствуя о формировании локальной гипоксии, которая влечет за собой

активацию ПОЛ, показатель степени окисленности липидов (СО) превышал контрольные значения здоровых детей в 1.5–2.6 раза. Показатели транспорта и утилизации кислорода снижены в 1.7 раза, по сравнению с контрольными значениями, а скорость доставки кислорода и скорость его потребления у больных снижена в 1.4–1.8 раз, свидетельствуя о формировании генерализованной гипоксии.

Больным, страдающим атопическим дерматитом проведена коррекция реамберинотерапией нарушений кислородного режима кожи, процессов ПОЛ и состояния антиоксидантной системы (АОС) реамберинотерапией. Препарат вводился внутривенно, капельно через день (в разовой дозе 10 мл /кг массы тела ребенка). Курс лечения от 5 до 7 инфузий раствора.

До начала терапии реамберинотерапией у всех больных выявлено повышение уровня токоферола, по сравнению с контролем, причем максимально высоким, превышая (в 2 раза) контрольные значения и уровень больных с легкой и средней тяжестью течения заболевания, а у больных с тяжелым течением показатель был увеличен в 1,7 раза. Уровень церулоплазмينا также (в 1.1–1.3 раза) превышал значения больных в контрольной группе. Общая антиокислительная активность сыворотки больных была выше в 1,2–1.4 раза контрольных значений. Индекс пероксидации до начала лечения превышал таковой у детей контрольной группы в 1,8–2.4 раза.

Таким образом, при атопическом дерматите у детей имеется значительное нарушение процессов перекисного окисления липидов показателей антиоксидантной системы.

В группе больных с тяжелым течением заболевания констатировали клиническую ремиссию у 4 больных, значительное улучшение – 19 больных, улучшение у 8 пациентов. Надо отметить, что практически у всех пациентов после первой инфузии значительно уменьшился зуд, побледнела эритема, а после четвертой инфузии уменьшилась инфильтрация и лихенизация. К окончанию курса терапии документировано улучшение цвета кожи, уменьшение сухости и отсутствие шелушения.

В группе больных, со средней тяжестью течения заболевания, констатировали клиническую ремиссию у 5 детей, значительное улучшение у 7 пациентов и улучшение у 7 детей. В этой группе детей, как и в предыдущей, после первой инфузии реамберина значительно уменьшился или полностью прекратился зуд, после окончания лечения все очаги инфильтрации и лихенизации разрешились.

Среди больных с легким течением клиническая ремиссия наступила у 6-ти, значительное улучшение у 3-х детей.

Следует отметить, что после первой и второй инфузии у пациентов улучшалось общее состояние, повышалось настроение, нормализовался сон и аппетит.

В целом по группе, у 80 больных атопическим дерматитом констатировали клиническую ремиссию (71,5%). Значительное улучшение у 23 пациентов

(20,5%) выражалось в прекращении зуда, улучшении самочувствия, повышении активности и нормализации сна, регрессе воспалительных инфильтрированных очагов, сохранении легкого шелушения и пигментации. У 8 детей после проведенной терапии отмечено улучшение в течение патологического процесса, при котором полностью прекратился зуд, исчезли воспалительные явления в очагах поражения, но сохранялась легкая инфильтрация в области лучезапястных суставов и явления хейлита. У 1 ребенка (0,9%) выраженного эффекта от проведенной терапии отмечено не было, но улучшилось самочувствие, нормализовался сон и аппетит.

Изучая показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АОС) состояние ПОЛ характеризовали по концентрации диенового конъюгата и малонового диальдегида. Антиокислительную активность оценивали по уровню токоферола, церулоплазмина, показателю общей антиокислительной активности сыворотки (ОАОА).

После проведения курса лечения реамберинотом наблюдали снижение (в 1,7–1,8) раза уровня токоферола. Содержание церулоплазмина в сыворотке снижалось, не отличаясь от уровня нормы.

Показатели общей антиокислительной активности после терапии повышались (в 1,5 раза), а индекс пероксидации уменьшился в 1,2–1,5 раза в зависимости от тяжести течения заболевания.

Таким образом, у больных atopическим дерматитом развивается состояние гипоксии, которое в свою очередь, влечет активацию процессов ПОЛ и сниже-

ние потенциальных возможностей антиоксидантной системы. Степень гипоксического состояния и активность ПОЛ требует коррекции антигипоксическим препаратом. Анализируя динамику лабораторных показателей и клиническую эффективность, не отмечено побочных реакций и осложнений, все больные хорошо переносили лечение. Реамберин способствует смягчению течения заболевания, нормализуя антиоксидантную защиту организма, удлиняя срок ремиссии, являясь патогенетически обоснованным препаратом у детей с данной патологией.

Список литературы

1. Атопический дерматит: рекомендации для практических врачей. – Российский национальный согласительный документ по atopическому дерматиту. – 2002.
2. Атопический дерматит: клинические рекомендации // Дерматовенерология. – 2007. – С. 21–35.
3. Афанасьев В.В. Клиническая фармакология реамберина: пособие для врачей. – СПб. – 2005.
4. Караулов А.В. Аллергия // Клиническая иммунология. – 1999. – С. 195–217.
5. Куликова О.Д. Коррекция реамберинотом гипоксических и антиокислительных нарушений при atopическом дерматите у детей: Автореф. дисс. ...к. м. н. – М., 2002. – 24 с.
6. Лукьянова Л.Д. Митохондриальные дисфункции при гипоксии – типовой патологический процесс // Митохондрии в патологии. – Пущино. – 2001. – С. 66–68.
7. Лукьянова Л.Д. Митохондриальные болезни и их коррекция энерготропными препаратами // Фармакология – практическому здравоохранению: материалы III съезда фармакологов России. – Санкт-Петербург. – 2007. – № 1 – С. 1776.

© Е.В. Белобородова, Э.И. Белобородова, Н.В. Рязанцева, Г.Э. Черногорюк, М.И. Рачковский, И.Л. Пурлик, О.Е. Акбашева, И.А. Гончарова, Д.А. Суходолин, 2008
© E.V. Beloborodova, E.I. Beloborodova, N.V. Ryazantseva, G.E. Chernogoryuk, M.I. Rachkovsky, I.L. Purlik, O.E. Akbasheva, I.A. Goncharova, D.A. Sukhodolin, 2008

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА КЛЕТЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНЬЕВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ

Е.В. Белобородова, Э.И. Белобородова, Н.В. Рязанцева, Г.Э. Черногорюк, М.И. Рачковский, И.Л. Пурлик, О.Е. Акбашева, И.А. Гончарова, Д.А. Суходолин
Сибирский государственный медицинский университет Росздрава, Томск, Россия

Белобородова Е.В., Белобородова Э.И., Рязанцева Н.В., Черногорюк Г.Э., Рачковский М.И., Пурлик И.Л., Акбашева О.Е., Гончарова И.А., Суходолин Д.А. Функциональные свойства клеточного и гуморального звеньев иммунной системы при хронических заболеваниях печени // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 79–84.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Росздрава, Россия., 634050, Томск, Московский тр., 2, тел. 8-382-2-53-33-03, факс: 8-382-2-53-33-03, e-mail: tatiana05@sibmail.com, belobekaterina@yandex.ru.

Резюме. Проводилась оценка состояния клеточного и гуморального звеньев иммунной системы при хронических заболеваниях печени. Обследовано 223 пациента, из них 93 с хроническим вирусным гепатитом (ХВГ), 76 – с ХВГ в сочетании с алкогольной болезнью печени (АБП); у 41 – был ведущий этиологический фактор алкоголь, у 13 – наркомания. В комплекс обследования входили методы исследования иммунного статуса – оценка иммунофенотипического профиля лимфоцитов и гуморального звена иммунитета. Полученные результаты показали, что у лиц, страдающих заболеванием печени, обусловленного вирусной HBV и HCV –инфекцией, алкогольной этиологией, либо их сочетанием независимо от генеза патологического

процесса, имеют место – Т-клеточный иммунодефицит, угнетение неспецифического звена защиты, высокое содержание количества лимфоцитов с повышенной апоптотической готовностью и высокой активностью гуморального звена иммунитета. Показатели системного иммунитета периферической крови у больных с хроническим течением заболевания печени не отражают тяжесть поражения органа-мишени и степень морфологической активности патологического процесса.

К л ю ч е в ы е с л о в а : хронический вирусный гепатит, алкогольная болезнь печени, наркомания, показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета.

Beloborodova E.V., Beloborodova E.I., Ryazantseva N.V., Chernogoryuk G. E., Rachkovsky M.I., Purluk I.L., Akbasheva O. E., Goncharova I.A., Sukhodolin D.A. Functional properties of cellular and humoral parts of immune system in chronic liver diseases // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 79–84.

S u m m a r y : The rating of a status cellular and humoral parts of immune system was spent at chronic diseases of a liver. 223 patients with a chronic virus hepatitis (23 patients), in a combination to alcoholic illness of liver (96 patients) are surveyed; at 41 – was conducting etiology the factor alcohol, at 13 – a narcotism. Methods of research of the immune status entered into a complex of inspection – a rating immunofenotypically a structure lymphocytes and гуморального a link of immunity. The received results have shown, that at the persons, suffering disease of the liver, caused virus HBV and HCV an infection, alcoholic etiology, or their combination irrespective of genesis pathological process, take place – the T-cellular immunodeficiency, oppression of a nonspecific link of protection, the high maintenance of quantity lymphocytes with increased apoptosis readiness and high activity гуморального a link of immunity. Parameters of system immunity of peripheral blood at patients with chronic current of disease of a liver do not reflect weight of defeat of a body – target and a degree of morphological activity of pathological process.

K e y w o r d s : a chronic virus hepatitis, alcoholic illness of a liver, a narcotism, parameters cellular and гуморального parts of immunity.

Несмотря на существенные достижения в изучении процессов прогрессирования HBV и HCV – инфекций, многие аспекты данного заболевания ещё не нашли положительного решения. Не выяснен до конца ряд вопросов патогенеза хронического вирусного гепатита (ХВГ), о факторах, способствующих быстрой прогрессии патологического процесса в печени [5, 9, 10]. Именно на основании реагирования иммунной системы на присутствие вируса выделяют фазы течения ХВГ, длительность и выраженность которых и обуславливает клинику и скорость прогрессирования заболевания [1, 11, 12, 13, 14]. В связи с высокой частотой обнаружения вирусных маркеров у пациентов, злоупотребляющих алкоголем, закономерно встает вопрос о взаимодействии повреждающих факторов на печень, каждый из которых самостоятельно может обуславливать тяжелое поражение этого органа [2, 3, 4, 7, 8, 9].

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я . Выявить изменения показателей клеточного и гуморального иммунитета и установить их роль в прогрессировании заболеваний печени различной этиологии.

Материалы и методы исследования. Обследовано 223 больных, из них 93 пациента с ХВГ, 76 – с ХВГ в сочетании с алкогольным поражением печени (АБП), 41 – с АБП, 13 – с сопутствующей активной наркоманией. При положительных результатах ПЦР вирусное поражение (HCV, HBV) расценивалось как ведущий этиологический фактор (группа 2), на фоне воздействия токсических агентов (алкоголя, опиатов и их сочетания) (группа 3, 4, 5). Оценку иммунофенотипического профиля лимфоцитов проводили путем определения содержания CD3+, CD4+, CD8+, CD22+, CD56+, CD95+ несущих лимфоцитов иммуноцитохимическим методом с использованием набора реагентов фирмы «Дако» (Дания). Проводили подсчет 200 клеток с определением относительного количества (%) положительно окрашенных клеток (6). Оценка гуморального звена иммунитета включала в себя определение концентрации сывороточных иммуноглобулинов А, М, G путем использования метода радиаль-

ной иммунодиффузии по Манчини и определения в сыворотке крови циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) методом преципитации раствором полиэтиленгликоля.

Для статистического обсчета фактического материала использовался статистический пакет SAS 8.0 (SAS. Inc, США).

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я и и х о б с у ж д е н и е . При оценке количественных показателей белой крови у обследованных пациентов, по сравнению с контролем, было установлено достоверное снижение абсолютного количества лимфоцитов в периферической крови при действии всех изученных этиологических факторов, обуславливающих хроническое течение заболеваний печени, и особенно, при изолированном вирусном генезе патологического процесса (табл. 1)

Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов позволило зарегистрировать у пациентов всех клинических групп статистически значимое снижение абсолютного (в 2 раза при ХВГ) и относительного числа CD3+клеток без достоверной разницы в зависимости от генеза поражения печени. Выявлено снижение относительного содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD4+, CD8+ и абсолютного числа CD56+клеток (особенно в группе пациентов с наркотическим анамнезом – более чем в 2 раза). Независимо от генеза поражения печени, прослеживалась очевидная тенденция к увеличению абсолютного числа лимфоцитов экспрессирующих CD8+, количество которых оказалось достоверно более высоким в сравнении с группой контроля при сочетанной этиологии поражения печени (вирус+алкоголь). Наряду с этим, в группах пациентов с сочетанной этиологией заболевания (вирус+алкоголь; вирус+опиаты) было выявлено снижение значений иммунорегуляторного индекса. При этом у пациентов с изолированной вирусной этиологией поражения печени и в группе с алкогольным генезом заболевания иммунорегуляторный индекс, несмотря на явную тенденцию к снижению, статистически не отличался от соответствующего конт-

рольного значения. Оценка абсолютного и относительного количества В-лимфоцитов (CD22+) при изученной этиологии заболевания позволила установить

отсутствие достоверного изменения содержания этих клеток независимо от фактора поражения печени (табл. 1).

Таблица 1

Показатели клеточного и гуморального иммунитета при заболеваниях печени различного генеза (Me; Q1: Q3)

Показатели	Здоровые доноры		ХВГ		ХВГ+ Алкоголь		АБП		Наркомания		Р м/гр.	Р парн.
			3		3		4		5			
	n	Me	n	Me	n	Me	n	Me	n	Me		
Общее количество лейкоцитов, г/л	32	6,18	90	5,86	76	6,63	40	6,88	13	5,50	0,296	ns
		5,81: 6,73		4,8: 7,6		5,15: 8,25		4,65: 9,81		4,8: 7,0		
Лимфоциты,%	32	35,23	91	35,0	76	38,50	40	33,0	13	46,0	0,023	p1-3 = 0,038 p3-4 < 0,001, p4-5 = 0,008
		32,89: 36,84		30,0: 42,0		31,5: 48		26,0: 42,0		35,0: 52,0		
Лимфоциты, г/л	32	2,80	90	2,12	76	2,28	40	2,59	13	2,26	0,016	p1-2 < 0,001, p1-3 = 0,049, p1-4 = 0,003, p1-5 = 0,036,
		2,59: 2,93		1,62: 2,93		1,91: 3,59		1,52: 3,38		1,6: 2,76		
CD3+,%	32	61,88	93	52,0	76	50,0	41	48,0	13	57,0	< 0,001	p1-2 < 0,001, p1-3 < 0,001, p1-4 < 0,001, p1-5 < 0,001
		60,14: 67,32		43,0: 59,0		43: 62,5		40,0: 57,0		46,0: 58,0		
CD3+, г/л	32	2,12	90	1,04	75	1,25	40	1,12	13	1,26	0,001	p1-2 < 0,001, p1-3 < 0,001, p1-4 < 0,001, p1-5 = 0,023
		1,19: 2,93		0,78: 1,45		0,9: 1,81		0,61: 1,66		0,91: 1,57		
CD4+,%	32	40,85	92	24,0	76	23,0	41	27,0	13	20,0	< 0,001	p1-2 < 0,001, p1-3 < 0,001, p1-4 < 0,001, p1-5 < 0,001
		32,22: 50,89		17,5: 36		16,5: 31,5		20,0: 38,0		14,0: 33,0		
CD4+, г/л	32	0,70	90	0,52	75	0,6	40	0,61	13	0,56	0,197	ns
		0,54: 0,9		0,3: 0,84		0,34: 0,87		0,39: 1,01		0,29: 0,79		
CD8+,%	32	29,85	93	23,0	76	25,5	41	23,0	13	25,0	0,002	p1-2 < 0,001, p1-3 = 0,007, p1-4 < 0,001, p2-3 = 0,029
		27,01: 32,82		16,0: 29,0		20,0: 34,0		17,0: 30,0		21,0: 30,0		
CD8+, г/л	32	0,44	90	0,49	75	0,62	40	0,5	13	0,56	0,047	p1-3 < 0,001, p2-3 = 0,009
		0,34: 0,65		0,31: 0,68		0,39: 0,98		0,28: 0,96		0,49: 0,72		
Иммунорегуляторный индекс, CD4+/CD8+	32	1,31	92	1,21	76	0,9	41	1,2	13	0,9	0,002	p1-3 < 0,001 p1-5 = 0,019, p2-3 = 0,004,
		0,99: 1,65		0,85: 1,6		0,69: 1,29		0,9: 1,4		0,8: 1,32		
CD22+,%	32	15,77	93	16,0	76	16,0	41	15,0	13	16,0	0,857	ns
		13,34: 17,59		12: 21		10,5: 22,5		10: 21		10: 18		
CD22+, г/л	32	0,48	90	0,34	75	0,37	40	0,36	13	0,4	0,137	ns
		0,39: 0,59		0,22: 0,55		0,22: 0,67		0,17: 0,54		0,21: 0,47		
CD56+,%	32	18,24	93	15,0	76	15,0	41	17,0	13	11,0	0,247	ns
		14,81: 21,22		10: 23		12: 22		10: 22		9: 15		
CD56+, г/л	32	0,56	90	0,33	75	0,34	40	0,35	13	0,24	0,047	p1-2 = 0,001, p1-3 = 0,006, p1-4 = 0,003,
		0,37: 0,74		0,18: 0,61		0,23: 0,59		0,21: 0,55		0,18: 0,3		
CD95+,%	32	4,85	79	12,0	63	10,0	37	12,0	11	10,0	< 0,001	p1-2 < 0,001, p1-3 < 0,001, p1-4 < 0,001,
		3,7: 7,01		7: 19		8: 17		6: 16		6: 16		

Таблица 1 (продолжение)

Показатели клеточного и гуморального иммунитета при заболеваниях печени различного генеза (Ме; Q1: Q3)

Показатели	Здоровые доноры		ХВГ		ХВГ+ Алкоголь		АБП		Наркомания		Р м/гр.	Р парн.
			3		3		4		5			
	n	Ме	n	Ме	n	Ме	n	Ме	n	Ме		
CD95+, г/л	32	0,11 0,03: 0,17	90	0,2 0,07: 0,44	74	0,2 0,09: 0,36	40	0,18 0,08: 0,49	13	0,24 0,1: 0,39	0,006	p1-2 < 0,001, p1-3 < 0,001, p1-4 < 0,001, p1-5 = 0,011
IgA, г/л	134	1,8 1,2: 2,3	59	1,8 1,25: 2,8	80	2,21 1,53: 2,8	67	4,1 3: 5,6	14	1,9 1,65: 3,35	< 0,001	p1-3 = 0,013, p1-4 < 0,001, p2-4 < 0,001, p3-4 < 0,001,
IgM, г/л	136	0,98 0,8: 1,3	59	1,45 1,05: 2,1	80	1,7 1,25: 2,34	67	1,8 1,2: 2,8	14	1,76 1,3: 2,3	< 0,001	p1-2 < 0,001, p1-3 < 0,001, p1-4 < 0,001, p1-5 < 0,001,
IgG, г/л	135	10,4 9: 12	59	12,5 9,5: 18	80	12,0 10: 15	67	13,2 11: 16,8	14	10,35 9,4: 13	< 0,001	p1-2 < 0,001, p1-3 = 0,008, p1-4 < 0,001, p2-5 = 0,037,
ЦИК, Ед	134	45,0 30: 60	56	107,5 71,5: 155	79	116,0 75: 186	66	126,5 81: 198	13	85,0 66: 128	< 0,001	p1-2 < 0,001, p1-3 < 0,001, p1-4 < 0,001, p1-5 = 0,001

При изучении фенотипических свойств лимфоцитов в исследованных клинических группах обращало на себя внимание значительное увеличение (в 2 раза) как абсолютного, так и относительного содержания CD95+ экспрессирующих клеток (лимфоцитов, готовых к апоптозу). Этот факт наблюдался при всех этиологических видах поражения печени: при вирусном, алкогольном, а также при сочетанном генезе хронического течения заболевания (без достоверной разницы между группами сравнения). Изучение показателей гуморального звена иммунной системы позволило установить наличие процессов активного специфического антителообразования у пациентов всех групп с определенными особенностями при алкогольном, вирусном и сочетанном генезе поражения печени (Себут Н.Е., Зуева В.Л., Пашкович В.В., Голотик Д.М. Эпидемиологическая характеристика парентеральных вирусных гепатитов в Республике Беларусь за 1996–2005 годы // Материалы научно-практической республиканской конференции. – Мн: УП«Доктор Дизайн», 2006. – С. 44–51. продолжение). Концентрация секреторных иммуноглобулинов IgA была статистически значимо более высокой по сравнению с контролем при изолированной алкогольной и сочетанной этиологии поражения печени (наиболее высокие значения регистрировались при изолированном действии алкоголя). Не было выявлено повышения IgA при вирусном генезе заболевания. Концентрация иммуноглобулинов M и G статистически значимо повышалась у пациентов всех изученных групп, по сравнению с контролем (за исключением пациентов изолированно употреблявших наркотики). Достоверно более высокая их концентрация зарегистрирована в

условиях сочетанного генеза поражения (вирус+алкоголь) и при алкогольной этиологии заболевания печени в сравнении с изолированным течением вирусной инфекции, что, по-видимому, связано с активным участием гуморальных и аутоиммунных механизмов в генезе алкогольного поражения органов. Исследование в периферической крови содержания циркулирующих иммунных комплексов, позволило также установить их значимую роль в генезе повреждающего действия, изученных этиологических факторов: как при вирусном, алкогольном, так и сочетанном генезе заболевания (содержание ЦИК у пациентов всех групп было достоверно повышенным по сравнению с контрольными значениями).

Наряду с этим, нами были проанализированы показатели клеточного и гуморального звеньев иммунной системы в сопоставлении с результатами морфологического исследования ткани печени. Не было установлено статистически значимых изменений в фенотипическом составе лимфоцитов с учетом степени активности патологического процесса в печени. В условиях хронического течения HCV- и HBV-инфекций, АБП и при сочетанном генезе заболевания как при слабой, умеренной, так и высокой активности процесса иммунофенотипический состав лимфоцитов был изменен, по сравнению с контрольной группой не зависимо от показателей индекса гистологической активности (ИГА) гепатита. При различной активности процесса в печени это проявлялось статистически значимым снижением в периферической крови содержания абсолютного и относительного количества зрелых Т-клеток, относительного числа Т-хелперов, цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ), им-

мунорегуляторного индекса (ИРИ), абсолютного содержания натуральных киллеров, В-лимфоцитов, и напротив, повышением абсолютного и относительного количества CD95+ лимфоцитов. При этом показатели гуморального иммунитета достоверно нарастали соответственно активности течения хронического воспаления в печени. При умеренной и высокой активности гепатита по сравнению со слабой, были установлены достоверно более высокие показатели содержания IgA, IgG и циркулирующих иммунных комплексов, что возможно обусловлено превалированием в этих группах пациентов с сочетанным генезом заболевания.

Исследование изменений иммунного статуса у обследуемых пациентов с учетом степени хронизации процесса также не выявлено достоверных различий в зависимости от выраженности фиброза на стадии хронического гепатита..

IV стадия хронизации – стадия цирроза печени достоверно отличалась более выраженным снижением абсолютного количества зрелых Т-лимфоцитов, относительного количества ЦТЛ и активизацией гуморальных механизмов поражения: выявлена более высокая концентрация IgA, IgG, IgM и циркулирующих иммунных комплексов в сравнении с соответствующими данными при течении процесса в рамках хронического гепатита.

Было установлено, что у пациентов с ХВГ, статистически значимый Т-клеточный иммунодефицит с увеличением числа лимфоцитов с меткой апоптоза и активность гуморального звена иммунитета имеют место уже на ранних этапах течения инфекции (при длительности заболевания до 5 лет), не изменяясь с длительностью заболевания. Длительность инфекции влияла только на абсолютное содержание лимфоцитов, В-клеток и значение IgG. Абсолютная лимфопения, снижение количества CD22+ и высокий уровень IgG выявлены лишь при длительности инфицирования свыше 5 лет. Необходимо отметить, что в нашем исследовании у пациентов с изолированным течением хронических вирусных гепатитов в сравнении с контрольным значением не было установлено изменения иммунорегуляторного индекса, даже при длительности заболевания свыше 10 лет.

Показатели клеточного и гуморального звеньев иммунной системы были проанализированы нами и с учетом длительности алкоголизации. Было установлено, что именно при злоупотреблении алкоголем свыше 10 лет в сравнении с контрольными показателями выявлено статистически значимое снижение в периферической крови относительного количества лимфоцитов, Т-хелперов, В-лимфоцитов и, напротив, повышение абсолютного содержания CD95+лимфоцитов и уровня IgG. При этом необходимо отметить, что установленный нами Т-клеточный иммунодефицит и активность гуморального звена иммунитета при хронической алкогольной интоксикации имели место и у пациентов с менее продолжительным сроком ал-

коголизации, что фактически усугублялось при дальнейшем злоупотреблении алкоголем.

З а к л ю ч е н и е . У лиц, страдающих хроническим заболеванием печени, обусловленным вирусной HBV- и HCV-инфекцией, алкогольной этиологией либо сочетанием данных повреждающих факторов независимо от генеза патологического агента имеет место Т-клеточный иммунодефицит (абсолютная лимфопения, низкое содержание зрелых Т-лимфоцитов, низкий иммунорегуляторный индекс), угнетение неспецифического звена защиты (низкое число натуральных киллеров), высокое содержание количества лимфоцитов с повышенной апоптотической готовностью (свидетельствует в пользу их функциональной неполноценности) и высокая активность гуморального звена иммунитета. При течении ХВГ на фоне злоупотребления алкоголем выявлена более глубокая депрессия Т-клеточного звена (низкий иммунорегуляторный индекс), с высоким содержанием цитотоксических лимфоцитов и значительная активизация гуморального ответа, что объясняет установленную нами более высокую активность процесса в печени и интенсивный фиброгенез на фоне хронической алкогольной интоксикации. Как показало исследование, у пациентов с изолированным течением хронических вирусных гепатитов Т-клеточный иммунодефицит, истощение неспецифического звена защиты и высокое количество готовых к апоптозу лимфоцитов имеют место уже на ранних этапах течения заболевания. Показатели системного иммунитета периферической крови у пациентов с хроническим течением заболевания печени не отражают тяжесть поражения органа-мишени и степень морфологической активности патологического процесса, что очевидно связано с глубоким истощением Т-клеточного звена на периферии вследствие хронического присутствия патологического агента в организме, либо с развитием определенных адаптационных механизмов или с миграцией лимфоцитов непосредственно в повреждаемые ткани.

Список литературы

1. Игнатова Т.М. Естественное течение хронической HCV инфекции // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 20–37.
2. Лопаткина Т.Н., Танащук Е.Л. Алкоголь и хроническая HCV-инфекция // Информационный бюллетень «Вирусные гепатиты: достижения и перспективы». – 2000. – № 1. – С. 11–14.
3. Маевская М.В. Клинические особенности алкогольного-вирусных поражений печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2004. – № 2. – С. 17–21.
4. Маевская М.В., Буевров А.О. Старые и новые подходы к лечению алкогольной болезни печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2003. – № 6. – С. 65–68.
5. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты. – 2-е изд. – СПб., 1998. – 325 с.
6. Тотолян А.А., Балдуева И.А., Бубнова Л.Н. и др. Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток кро-

ви и костного мозга человека // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. – № 1. – С. 44–50.

7. Танащук Е.Л., Серов В.В. Патогенез HBV- и HCV-инфекций при алкогольной болезни печени // Клиническая Медицина. – 2002. – № 1. – С. 5–8.

8. Хазанов А.И. Итоги длительного изучения (1946–2005) этиологии циррозов печени у стационарных больных // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2006. – № 2. – С. 11–18.

9. Хронический вирусный гепатит / Под ред В.В. Серова, З.Г. Апросиной. – М.: Медицина, 2004. – 384 с.

10. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей: Пер. с англ. – М.: ГЭОТАР, 1999. – 864 с.

11. Ярилин, А.А. Основы иммунологии. – М.: Медицина, 1999. – 608 с.

12. Ferrari C., Penna A., Bertolotti A. et al. Antiviral cell-mediated immune responses during hepatitis B and hepatitis C virus infections // Recent Results Cancer Res. – 1998. – Vol. 154. – P. 330–336.

13. Boyer N. Pathogenesis, diagnosis and management of hepatitis C // J. Hepatol. – 2000. – Vol. 32. – P. 98–112.

14. Cheu C., Liaw Y. Natural history of chronic hepatitis B virus infection an immunopathological study // Gastroenterol. Hepatol. – 1997. – Vol. 12, N 9. – P. 21–22.

© И.П. Баранова, Ж.Н. Керимова, О.А. Жеворченкова, А.Е. Сосновский, 2008

© I.P. Baranova, Zh. N. Kerimova, O.A. Zhevorchenkova, A.E. Sosnovsky, 2008

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ

И.П. Баранова, Ж.Н. Керимова, О.А. Жеворченкова, А.Е. Сосновский

Пензенский институт усовершенствования врачей Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, г. Пенза, Россия

Областная детская клиническая больница им. Н.Ф. Филатова, г. Пенза, Россия

Баранова И.П., Керимова Ж.Н., Жеворченкова О.А., Сосновский А.Е. Особенности течения цитомегаловирусной инфекции у детей первого года жизни // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 84–87.

Государственное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Пензенский институт усовершенствования врачей Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Пенза, Россия

Государственное учреждение здравоохранения «Областная детская клиническая больница им. Н.Ф. Филатова», г. Пенза, Россия

Резюме: Авторы наблюдали 178 детей с цитомегаловирусной инфекцией в возрасте от 0 до 12 месяцев жизни. Диагноз устанавливали на основании исследования материала методом ПЦР; выявления ЦМВ-клеток в слюне и моче; диагностических титров специфических антител IgM и IgG методом ИФА. Группу сравнения составили 25 детей без внутриутробных инфекций. Обследование центральной нервной системы проводилось с помощью нейросонографии и компьютерной томографии. Представлены критерии, позволяющие своевременно распознавать инфекцию и проводить адекватную терапию.

Ключевые слова: цитомегаловирусная инфекция, дети раннего возраста, факторы риска.

Baranova I.P., Kerimova Zh. N., Zhevorchenkova O. A., Sosnovsky A.E. Special characteristics of cytomegalovirus infection in children of the first year of life // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 84–87.

S u m m a r y : The authors examined 178 infants aged 0–12 months with cytomegalovirus infection. Diagnosis was verified by detection of CMV-cells in saliva and urine; detection of specific IgM and IgG-antibodies in diagnostic titers with enzyme immunoassay; inoculation by chain polymerase reaction. Control groups consisted of 25 infants without intrauterine infections. Examinations of central nervous system was performed by neurosonography and computed tomography. The paper presents criteria allowing to distinguish infection early and conduct appropriate therapy.

K e y w o r d s : cytomegalovirus infection, young infants, risk factors.

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) является одной из наиболее частых внутриутробных инфекций и встречается во всех странах мира.

По данным различных авторов частота неврологических расстройств у детей с ЦМВИ достигает 80%, а специфический менингоэнцефалит диагностируется в 10–25% случаев. В спектре церебральных нарушений отмечается преобладание проявлений синдрома внутривentricular гипертензии, полиморфного судорожного синдрома (причиной которого может быть кальцификация мозговых сосудов), грубых двигательных расстройств с исходом в детский церебральный паралич [2, 1]. Наблюдается энцефалит с образованием цитоме-

галических клеток, периваскулярных инфильтратов и очагов кальциноза в субependymальных зонах [5]. Возможна микроцефалия [4], иногда отмечают умеренно выраженную внутреннюю гидроцефалию [3]. В связи с этим представляет интерес изучение факторов риска и клинических проявлений поражения нервной системы при этой инфекции и сравнение их с поражениями нервной системы перинатального периода, не обусловленных инфекционными агентами.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я . Провести анализ факторов риска и особенностей поражений нервной системы при цитомегаловирусной инфекции у детей первого года жизни.

М а т е р и а л и м е т о д ы и с с л е д о - в а н и я . Под наблюдением находилось 203 ребенка первого года жизни с клиническими проявлениями заболеваний, причиной которых могло быть внутриутробное инфицирование. Обследование проведено в специализированном стационаре Областной детской клинической больницы (отделение патологии детей раннего возраста). Диагноз устанавливался на основании выделения генома цитомегаловируса в биологических жидкостях больных детей (кровь, слюна, моча, ликвор) методом ПЦР и обнаружении специфических антител класса IgM и низкоавидных антител класса IgG в крови методом ИФА. Проводилось цитологическое исследование осадка мочи и соскобов со слизистой оболочки щек, позволяющее выявить гигантские клетки в виде «совиного глаза», а также изучение анамнеза, наследственности, результатов объективного осмотра. Обследование включало изучение общего и акушерского статуса матерей, особенности акушерской и экстрагенитальной патологии, течения беременности и родов по 62 параметрам. Пациентам проводили унифицированные исследования капиллярной крови (клинический анализ крови) и мочи (общий анализ мочи), биохимическое исследование крови (АЛТ, АСТ, общий билирубин и фракции, мочевины, креатинин, кальций, фосфор и др.). Для диагностики поражений нервной системы использованы нейросонография, рентгенография черепа, компьютерная томография головного мозга. В результате обследования у 178 детей диагностирована цитомегаловирусная инфекция (1 группа). Контрольную группу (группу сравнения) составили 25 пациентов с проявлениями церебральной ишемии различной степени выраженности, у которых внутриутробная инфекция исключена. У 43 детей (24,1%) 1 группы ЦМВИ диагностирована в течение первого месяца жизни, у 58 (32,5%) – в возрасте от 1 до 3 месяцев, у 48 (26,9%) – в возрасте от 4 до 6 месяцев и у 29 (16,2%) – в возрасте старше 6 месяцев, несмотря на то, что клинические проявления заболевания отмечены с периода новорожденности. В протокол исследования не включались больные с верифицированными (методами ПЦР и ИФА) инфекциями, вызванными вирусами краснухи и простого герпеса I и II типов, а также токсоплазмами, хламидиями, уреаплазмами.

Полученные цифровые данные обследования вносили в специально разработанные карты и подвергали компьютерной и статистической обработке методами математического анализа согласно законам медицинской статистики. Статистическая обработка полученных результатов выполнялась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6,0» для статистической обработки данных «Microsoft Excel-2000» на персональном компьютере. Определяли средние величины показателей (М); рассчитывали стандартные ошибки средних величин этих показателей (m); оценивали достоверность различий средних значений показателей в сравниваемых группах с использованием t-критерия Стьюдента. Различия сравниваемых ве-

личин признавали статистически достоверными при вероятности 95% ($p < 0,05$) и выше. Исследование проводилось в 2 этапа: на I этапе проводился анализ факторов риска развития ЦМВИ и сравнение их с факторами риска при неинфекционных поражениях нервной системы. На II этапе проводился анализ структуры клинических проявлений и лабораторно-инструментальных признаков ЦМВИ, которые также сравнивались с проявлениями поражений нервной системы у детей без инфекций.

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я и и х о б с у ж д е н и е . В 1 группе (больные с ЦМВИ) при анализе течения беременности и родов отмечено, что первой беременностью была у 53,9% матерей, повторной – у 46,1%; первородящие составили 73%, повторнородящие – 27%. Предыдущие беременности закончились мертворождением (1,1%) или рождением недоношенных детей (1,1%) – в 4 случаях, в 19,1% – прерыванием беременности, в 11,7% – самопроизвольным прерыванием беременности; в 3,3% случаев имела место неразвивающаяся беременность, в 3,9% – смерть детей на первом году жизни. В 51,1% случаев во время настоящей беременности отмечалась угроза прерывания, у 57 матерей (32%) – гестоз I половины, у 76 (42,6%) – гестоз II половины беременности, у 57 (32%) – анемия. Проведенное ультразвуковое исследование выявило фетоплацентарную недостаточность – в 5,6%, маловодие – в 6,7%, многоводие – в 2,2% и различную патологию плаценты – в 3,9% случаев. В 30 случаях (16,8%) роды произошли преждевременно, у 8 (4,4%) отмечались запоздалые роды, у 29 (16,2%) – путем кесарева сечения. Задержка внутриутробного развития по гипотрофическому типу отмечалась у 30 (16,8%) детей, по гипопластическому и диспластическому – у 4 (по 1,1%).

Во время настоящей беременности острые респираторные заболевания перенесли 26,9% матерей, 11,2% – другие острые заболевания (в том числе пиелонефрит), 0,5% – гнойно-воспалительные заболевания (пидермия), в 1,1% случаев наблюдалось обострение хронической патологии. Соматические заболевания выявлены у 26,4% матерей, хронические и воспалительные заболевания гениталий – у 32%; 6,7% матерей имели резус-отрицательную кровь. Наличие у родственников хронических инфекционных заболеваний обнаружено в 0,5% случаев, аллергических заболеваний – в 2,2%, соматических заболеваний – в 2,8%, онкологических заболеваний – в 1,1% случаев.

Во время родов наблюдались следующие осложнения: преждевременное излитие околоплодных вод (7,8%), длительный безводный период (2,2%), стремительные роды (5,05%). 7,3% детей родились в асфиксии, 12,3% – с обвитием пуповины вокруг шеи. В ягодичном предлежании родились 5,6% детей, в затылочном – 1,6%, ножном – 1,1%; 4,4% детей родились с большой массой тела (свыше 4 кг).

Сравнительный анализ показал, что предшествующее бесплодие, частота аллергических заболеваний у близких родственников (1–2 линии родства), нераз-

вивающаяся беременность, хроническая плацентарная недостаточность, патология плаценты, маловодие, преждевременное излитие околоплодных вод, стремительные роды, недоношенность, многоплодная беременность, обвитие пуповиной достоверно чаще ($p < 0,05$) преобладали у пациентов 1 группы, чем у

больных 2 группы. При ЦМВИ чаще, чем у больных 2 группы диагностировались гнойно-воспалительные заболевания и ОРЗ в периоде новорожденности, кровоточащий пупок, натальная травма шейного отдела позвоночника, водянка яичек, дисплазия тазобедренных суставов и пищевая аллергия (табл. 1).

Таблица 1

Достоверные различия факторов риска цитомегаловирусной инфекции и церебральной ишемии ($p < 0,05$)

Признак	ЦМВИ	Церебральная ишемия
Неразвивающаяся беременность	3,3 ± 1,3	-
Бесплодие	3,2 ± 1,09	-
Аллергические заболевания у родственников	2,2 ± 1,09	-
Хроническая фетоплацентарная недостаточность	5,6 ± 1,7	-
Маловодие	6,7 ± 1,8	-
Патология плаценты	3,9 ± 1,4	-
Раннее отхождение околоплодных вод	7,8 ± 2	-
Стремительные роды	5,05 ± 1,6	-
Обвитие пуповиной	12,3 ± 2,4	4 ± 3,9
Многоплодная беременность	3,3 ± 1,3	-
Недоношенность	16,8 ± 2,8	4 ± 3,9
Гнойно-воспалительные заболевания в периоде новорожденности	7,3 ± 1,9	-
Кровоточащий пупок	4,4 ± 1,5	-
ОРЗ в периоде новорожденности	1,6 ± 0,9	-
Конъюгационная желтуха	28 ± 3,3	52 ± 9,9
Натальная травма шейного отдела позвоночника	15,1 ± 2,6	-
Пищевая аллергия	19,6 ± 2,9	8 ± 5,4
Водянка яичек	6,7 ± 1,8	-
Дисплазия тазобедренных суставов	12,9 ± 2,5	-

При изучении клинических проявлений ЦМВИ обнаружено, что поражение нервной системы наблюдалось в 100% случаев, в том числе: поражение ядер черепно-мозговых нервов наблюдалось у 3 детей (1,6%), судорожная готовность или судороги – у 19 (10,6%), мышечная гипотония – у 101 (56,7%), гипорефлексия – у 90 (50,5%), косоглазие – у 28 (15,7%), нистагм – у 10 (5,6%), тремор – у 58 (32,5%). Менингит диагностирован у 6 (3,3%) детей, менингоэнцефалит – у 4 (2,2%), энцефалит – у 14 (7,8%). У 140 (78,6%) наблюдался гидроцефальный синдром, у 6 (3,3%) – микроцефальный, признаки внутричерепной гипертензии выявлены у 96 (53,9%) детей. У 1 (0,5%) ребенка диагностирован увеит, у 3 (1,6%) – ретинопатия, у 1 (0,5%) – тугоухость. Выявлены ведущие нейросонографические признаки: кисты сосудистых сплетений (52,2%), вентрикуломегалия (78,6%), признаки острого внутрижелудочкового кровоизлияния (7,3%), наличие перивентрикулярно расположенных кальцинатов в головном мозге (25,8%), ангиопатии (25,8%), уплотнение сплетений (54,4%), расширение сплетений (15,1%), деформация сплетений (20,7%), уплотнение таламусов (17,9%), уплотнение перивентрикулярных зон (17,9%).

Сравнительный анализ показал, что при ЦМВИ достоверно чаще, чем во 2 группе, диагностировались менингит, микроцефалия, внутричерепная гипертен-

зия, перивентрикулярно расположенные кальцинаты и кисты сосудистых сплетений в головном мозге, ангиопатии сосудов головного мозга и уплотнение таламусов (табл. 2).

Таблица 2

Достоверные различия клинико-инструментальных проявлений поражений нервной системы при ЦМВИ и церебральной ишемии ($p < 0,05$)

Признак	ЦМВИ	Церебральная ишемия
Микроцефалия	3,3 ± 1,3	-
Внутричерепная гипертензия	53,9 ± 3,7	72 ± 8,9
Менингит	3,3 ± 1,3	-
Ангиопатии сосудов мозга	25,8 ± 3,2	4 ± 3,9
Кисты сосудистых сплетений	52,2 ± 3,7	28 ± 8,9
Уплотнение сосудистых сплетений	54,4 ± 3,7	32 ± 9,3
Уплотнение таламусов	17,9 ± 2,8	-

В ы в о д ы

1. Обнаружены достоверные различия в частоте встречаемости ряда факторов риска при ЦМВИ в сравнении с церебральной ишемией неинфекционного генеза, что может быть использовано для обоснования ранней этиологической верификации заболевания.

2. При цитомегаловирусной инфекции у детей раннего возраста достоверно чаще, чем при церебральной ишемии неинфекционного генеза, диагностируются менингит, микроцефальный синдром, синдром внутривentricular гипертензии; а в головном мозге (по данным нейросонографического исследования) чаще развиваются кисты и уплотнение сосудистых сплетений, а также перивентрикулярно расположенные кальцины и ангиопатии сосудов головного мозга.

Список литературы

1. Кудашов Н.И. Цитомегаловирусная инфекция у новорожденных: диагностика и лечение // Лечащий врач. – 2006. – № 3. – С. 73–78

2. Орехов К.В. Врожденная цитомегаловирусная инфекция / К.В. Орехов, М.В. Голубева, Л.Ю. Барычева // Детские инфекции. – 2004. – № 1. – С. 49–55

3. Перинатальные инфекции: Практическое пособие / под ред. А.Я. Сенчука, З.М. Дубоссарской. – М.: МИА, 2005. – 318 с.

4. Генне Н.А. и др. Пороки развития ЦНС у новорожденных с внутриутробной инфекцией // Педиатрия. – 1999. – № 5. – С. 42–44

5. Кулаков В.И. и др. Цитомегаловирусная инфекция в акушерстве // М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 32 с.

© В.П. Новикова, В.А. Крулевский, А.Н. Петровский, 2008

© V.P. Novikova, V.A. Krulevskiy, A.N. Petrovskiy, 2008

ЭПШТЕЙН-БАРР ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ ПРИ НЕХЕЛИКОБАКТЕРНОМ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРИТЕ У ЛИЦ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

В.П. Новикова¹, В.А. Крулевский², А.Н. Петровский³

¹Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия
²Государственное учреждение «Северо-западный окружной медицинский Центр МЗ РФ»,
г. Санкт-Петербург

³Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова

Новикова В.П.¹, Крулевский В.А.², Петровский А.Н.³ Эпштейн-Барр вирусная инфекция при нехеликобактерном хроническом гастрите у лиц разного возраста // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 87–90.

¹Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации», Россия, 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул. д. 2, Тел. (812) 542-39-83, Тел. /факс: (812) 295-40-85, Эл. почта: spb@gpma.ru

²Государственное учреждение «Северо-западный окружной медицинский Центр МЗ РФ». 190103, Санкт-Петербург, наб. реки Фонтанки, 154, Факс: (812) 251-02-25. Эл. почта: kroulevki@bkcb.spb.ru

³Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУВПО СПб ГМА им. И.И. Мечникова Росздрава), Россия, 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47 Тел. (812) 543-96-09, факс: (812) 140-15-24 Эл. почта: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

Резюме: Иммуногистохимическое исследование биоптатов слизистой оболочки желудка выявило антигены вируса Эпштейн-Барр (ВЭБ) у 70% детей и у 50% взрослых с хроническим нехеликобактерным гастритом.

Ключевые слова: хронический нехеликобактерный гастрит, вирус Эпштейн-Барр, иммуногистохимия.

Novikova V.P. Krulevskiy V.A., Petrovskiy A.N. Epstein-Barr virus infection and chronic none-HP-associated gastritis in patients of different age // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 87–90.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Sankt-Petersburg state pediatric medical academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 194100, St.-Petersburg, Litovskaya str., 2, tel. (812) 542-39-83, tel. /fax: (812) 295-40-85, e-mail: spb@gpma.ru

State organization «Northwest district medical Center the Russian Federation HM». 190103, St.-Petersburg, quay of the river of Fontanka, 154, Fax: (812) 251-02-25. E-mail: kroulevki@bkcb.spb.ru.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», Russia, 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

Summary: Virus antigens of EBV in a stomach mucous are found out in 70% of children and at 50% of adults suffering from chronic none-HP-associated gastritis by immunohistochemical methods.

Keywords: chronic none-HP-associated gastritis, EBV infection, immunohistochemical method.

Вирус Эпштейн-Барр (ВЭБ) имеет тропность к эпителиальным клеткам желудочно-кишечного тракта. В последние годы описаны пораже-

ния слизистой оболочки желудка при ВЭБ-инфекции [2,5,6,10]. Доказана роль хронической активной ВЭБ-инфекции в генезе аутоиммунного гастрита у детей, ее

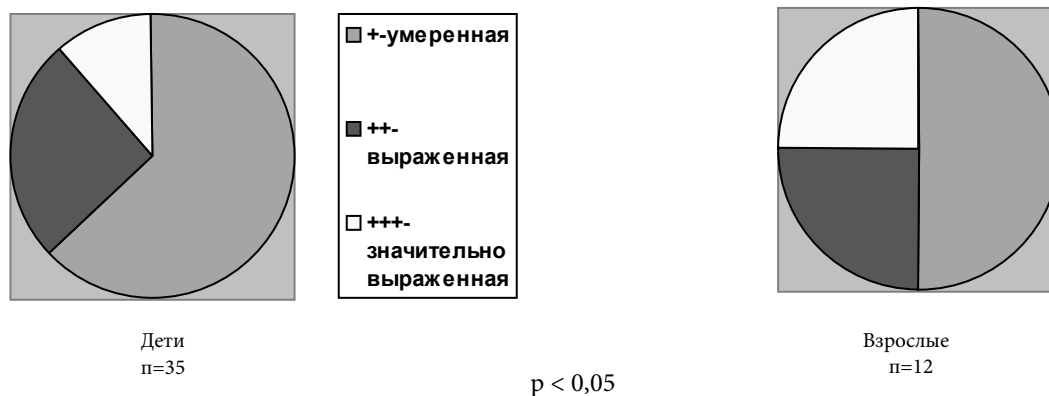


Рис. 1. Выраженность экспрессии антигенов ВЭБ у лиц разного возраста, страдающих хроническим нехеликобактерным гастритом

взаимосвязь с хеликобактериозом [2,10]. В то же время частота ВЭБ-инфекции у взрослых больных и ее роль в генезе нехеликобактерного гастрита изучена недостаточно.

Цель исследования: выявить антигены вируса Эбштейн-Барр в слизистой оболочке желудка при хроническом нехеликобактерном гастрите у лиц разного возраста и описать морфологические особенности гастрита, ассоциированного с ВЭБ-инфекцией.

Материалы и методы исследования: На базе КДЦ № 2 для детей г. Санкт-Петербурга нами обследовано 50 детей в возрасте от 7 до 17 лет, в гастроэнтерологическом отделении больницы имени Петра Великого – 24 взрослых пациентов в возрасте от 18 до 78 лет, имеющих морфологически верифицированный диагноз – хронический гастрит. Отрицательный НР-статус был установлен на основании негативных результатов бактериологического, цитологического, гистологического, биохимического и серологического методов. Морфологическая оценка препаратов проводилась по модифицированной визуально-аналоговой шкале, полуколичественным методом [1]. Проводилось также иммуногистохимическое исследование биоптатов слизистой оболочки желудка. Антигены ВЭБ выявляли на парафиновых срезах биоптатов. В качестве первых антител использовали моноклональные антитела к латентному мембранному протеину ВЭБ (производство Novocastra). Использовали авидин-биотиновую систему детекции. На первом этапе на депарафинированные срезы наносили немеченные первичные антитела, далее следовали биотинилированные вторичные антитела и затем инкубировали с авидин-биотиновым комплексом с пероксидазой хрена. Продукт реакции выявляли по наличию светло- и темно-коричневых гранул в структурах слизистой оболочки желудка при микроскопическом исследовании в обычном световом микроскопе. Гистологические и иммуногистохимические исследования проводились на кафедре патологической анатомии СПбГМА им. И.И. Мечникова.

Результаты исследования: Антигены ВЭБ в слизистой оболочке желудка обнаружены у 70% детей и 50% взрослых ($p > 0,05$). У всех пациентов антигены выявлялись в обоих биоптатах (фундальном и антральном), причем выраженность экспрессии антигенов в обеих отделах желудка была одинакова. На рисунке 1 представлена выраженность экспрессии вирусных антигенов у лиц разного возраста, страдающих хроническим нехеликобактерным гастритом.

Как следует из рисунка, у детей чаще, чем у взрослых, отмечалась умеренная экспрессия антигена в слизистой оболочке желудка; выраженная экспрессия антигена чаще выявлялась у взрослых.

Антигены вируса Эпштейн-Барр в слизистой оболочке желудка имели преимущественно периваскулярное расположение (рис. 2).

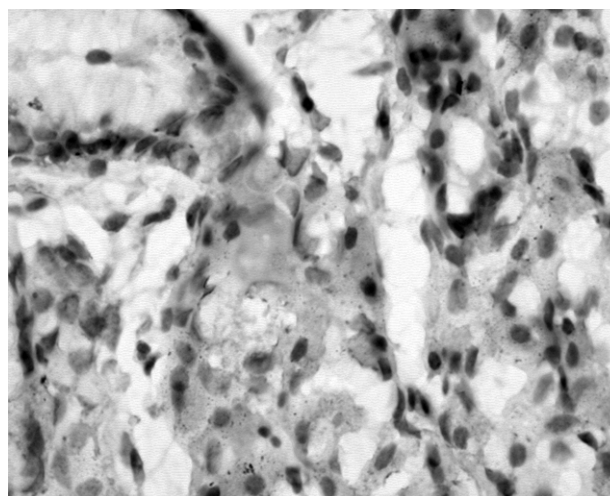


Рис. 2. Больная Т. 15 лет. ИГХМ. Об. ×600.

Отмечается умеренная мононуклеарная клеточная инфильтрация стромального компонента, в сочетании с неравномерно выраженными дистрофическими изменениями и отеком основного и волокнистого компонентов межклеточного вещества, в эпителии донных и шеечно-перешеечных отделов желез желудка положительная иммуногистохимическая реакция (+) – (++) к антигенам вируса Эбштейн-Бара, с преимущественно их периваскулярной локализацией.

Таблица 1

Степень полнокровия сосудов в слизистой оболочке у пациентов с ВЭБ-инфекцией и хроническим нехеликобактерным гастритом в разных возрастных группах

Группы	Степень полнокровия сосудов	ВЭБ+ Дети п = 35 Взрослые п = 12		Вирусов нет Дети п = 15 Взрослые п = 12	
		тело	анtrum	тело	анtrum
Дети	слабая	82,8%	75%	60%	46,7%
	умеренная	14,3%	14,3%	40%	53,3%
	выраженная	2,9%	8,7%	0%	0%*
Взрослые	слабая	58,3%	50%	58,3%	66,8%
	умеренная	16,7%	33,3%	31,7%	33,2%
	выраженная	25%	16,7%	0%*	0%*

Примечание. * $p < 0,05$

Кроме того, степень сосудистых нарушений в слизистой оболочке у пациентов хроническим нехеликобактерным гастритом зависела от наличия или отсутствия ВЭБ-инфекции (табл. 1).

Так, выраженное полнокровие сосудов в слизистой оболочке тела и антрального отдела желудка при ВЭБ-инфекции была достоверно выше как у детей, так и у взрослых.

Степень активности хронического гастрита у пациентов с ВЭБ-инфекцией в разных возрастных группах представлена в таблице 2.

Как следует из таблицы 2, у детей с выявляемыми в слизистой желудка антигенами ВЭБ, достоверно чаще, чем у детей без таковых антигенов, отмечалась выраженная активность гастрита как в слизистой оболочке тела желудка (42,8% и 0%, $p < 0,05$), так и в антральном отделе

Таблица 2

Степень активности хронического гастрита у пациентов с ВЭБ-инфекцией в разных возрастных группах

Группы	Степень активности гастрита	ВЭБ+ Дети п = 35 Взрослые п = 12		Вирусов нет Дети п = 15 Взрослые п = 12	
		тело	анtrum	тело	анtrum
Дети	слабая	25,8%	22,8%	53,3%*	75%*
	умеренная	31,4%	42,8%	46,7%	25%
	выраженная	42,8%	34,4%	0%*	0%*
Взрослые	слабая	16,7%	16,7%	75%*	66,8%*
	умеренная	16,7%	33,3%	25%	16,6%
	выраженная	66,6%	50%	0%*	16,6%*

Примечание. * $p < 0,05$

Таблица 3

Состав инфильтрата в слизистой оболочке желудка у пациентов с ВЭБ-инфекцией и нехеликобактерным гастритом в разных возрастных группах

Группы	Состав инфильтрата (число клеток на 100 эпителиоцитов)	ВЭБ+ Дети п = 35 Взрослые п = 12		Вирусов нет Дети п = 15 Взрослые п = 12	
		тело	анtrum	тело	анtrum
Дети	мононуклеары	13,37 ± 5,69	14,94 ± 4,98	11,73 ± 3,12	13,4 ± 3,78
	плазматические клетки	12,54 ± 4,21	13,57 ± 4,65	5,0 ± 2,06*	4,8 ± 1,98*
	эозинофилы	5,2 ± 2,3	4,63 ± 2,06	0*	0*
Взрослые	мононуклеары	12,83 ± 3,79	15,5 ± 4,17	11,5 ± 3,76	13,5 ± 5,1
	плазматические клетки	13,58 ± 5,28	13,0 ± 4,35	5,83 ± 2,44*	5,83 ± 2,31*
	эозинофилы	5,16 ± 1,9	5,9 ± 1,2	0*	2,83 ± 0,9*

Примечание. * $p < 0,05$

(34,4% и 0%, $p < 0,05$). Слабая активность гастрита при ВЭБ-инфекции в обоих отделах желудка отмечалась достоверно реже, чем у детей без инфекции.

У взрослых при ВЭБ-инфекции достоверно чаще, чем у неинфицированных больных, также отмечалась не только выраженная активность гастрита в слизистой оболочке тела (66,6% и 0%, $p < 0,05$), и антрально-го отдела желудка (50% и 16,6%, $p < 0,05$), но и реже выявлялась слабая активность в фундальном (16,7% и 75%, $p < 0,05$) и антральном отделе (16,7% и 66,8%, $p < 0,05$). Состав инфильтрата в слизистой оболочке желудка у пациентов с нехеликобактерным гастритом в разных возрастных группах в зависимости от наличия ВЭБ-инфекции представлен в таблице 3.

Как следует из таблицы 3, у детей при ВЭБ-инфекции в теле и антральном отделе желудка отмечается достоверно более высокий уровень плазмоцитарной и эозинофильной инфильтрации, чем у неинфицированных детей. Похожие данные получены и при обследовании взрослых.

В ы ы о д ы

1. При хроническом нехеликобактерном гастрите у детей и взрослых одинаково часто в слизистой оболочке желудка, преимущественно периваскулярно, выявляются антигены вируса Эпштейн-Барр.

2. Морфологическая картина слизистой оболочки желудка при хроническом нехеликобактерном гастрите, ассоциированном с ВЭБ-инфекцией, у пациентов любого возраста характеризуется более частой плазмоцитар-

ной и эозинофильной инфильтрацией, сосудистыми расстройствами и более высокой степенью активности, чем при гастрите, неассоциированном с ВЭБ.

Список литературы

1. Аруин Л.Н., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М., 1998. – С. 483.
2. Волюнец Г.В. Этиологические факторы хронических гастритов у детей // Вопросы современной педиатрии. – 2006. – № 3. – С. 24–29.
3. Волюнец Г.В., Хавкин А.И., Филатов Ф.П. К вопросу об этиологии аутоиммунного гастрита у детей // Медлайн. – 2004. – № 8–9. – С. 6–8.
4. Львов Д.К., Баринский И.Ф., Гараев М.М., Алимбарова Л.М. Актуальные проблемы герпесвирусных инфекций. – М., 2004. – С. 124.
5. Новикова В.П., Крулевский В.А., Петровский А.Н., Иванова В.Ф. Иммуногистохимическое определение герпесвирусных антигенов в слизистой желудка // Российский иммунологический журнал. – 2008. – т. 2 (11). – № 2–3. – С. 182.
6. Новикова В.П., Аксенов О.А., Насыров Р.А., Крулевский В.А., Евстратова Ю.С. Герпетические инфекции при хроническом гастрите у лиц разного возраста // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – СПб., 2006. – № 2. – С. 117–120.
7. Ройзман Б., Баттерсон У. Герпесвирусы и их репликация. Вирусология / Пер. с англ. / Под ред. Б. Филдса, Д.М. Найпа. – М.: Мир, 1989. – Т. 3. – С. 186–227.
8. Volynets G.V., Khavkin A.I., Babaian M.L. et al. Epstein-Barr virus in children with chronic gastritis // J. of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2004. – Vol. 39. – P. 395.

© Н.Д. Ющук, М.Д. Ахмедова, С.А. Магомедова, 2008

© N.D. Yuchshuk, M.D. Akhmedova, S.A. Magomedova, 2008

Т- И В-КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ У БОЛЬНЫХ БРУЦЕЛЛЕЗОМ

Н.Д. Ющук¹, М.Д. Ахмедова², С.А. Магомедова²

¹Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва, Россия

²Дагестанская государственная медицинская академия, Махачкала, Россия

Ющук Н.Д., Ахмедова М.Д., Магомедова С.А. Т- и В-клеточный иммунитет у больных бруцеллезом // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 90–92.

Московский государственный медико-стоматологический университет. Россия, 103473, Москва, ул. Делегатская, 20/1, телефон/факс 8-499-973-32-59.

Дагестанская государственная медицинская академия. Россия, 367000, Махачкала, пл. Ленина, 1, телефон 8-722-67-49-23; e-mail: dzh-akhmedov@yandex.ru.

Р е з ю м е . Бруцеллез является важной проблемой здравоохранения территорий животноводческой ориентацией сельского хозяйства. В России высокая заболеваемость сохраняется из года в год. Цель исследования: изучение Т- и В-клеточных звеньев у больных с различными клиническими формами бруцеллеза. У 322 больных бруцеллезом (из них у 160 больных острый, у 162 хронический бруцеллез) изучено содержание Т- и В-лимфоцитов в крови. При этом выявлено значительное снижение содержания в периферической крови абсолютного количества CD₃-, CD₄- и CD₈-лимфоцитов. Количество CD₂₀-лимфоцитов снижалось в группе больных с хроническим бруцеллезом и увеличивалось у больных с острым бруцеллезом. С нарастанием тяжести течения острого бруцеллеза отмечалось статистически достоверное снижение содержания CD₃-, CD₄-, CD₈-клеток и увеличение содержания CD₂₀-клеток. Таким образом, у больных бруцеллезом развиваются иммунные дисфункции, что свидетельствует о необходимости наряду с общеклиническим обследованием этих больных и исследование Т- и В-клеточных звеньев иммунитета.

К л ю ч е в ы е с л о в а : бруцеллез, Т-лимфоциты, В-лимфоциты.

Yushchuk N.D., Akhmedova M. D., Magomedova S.A. T – and B-cellular immunity in patients with brucellosis // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 90–92.

Moscow State Medical-Dental University. Russia, 103473, Moscow, Delegatskaya str., 20/1, telephone/ fax 8499-973-32-59.

Daghestan State Medical Academy. Russia, 367000, Makhachkala, Lenina sq., 1, telephone 8-722-67-49-23; e-mail: dzh-akhmedov@yandex.ru

S u m m a r y : Brucellosis is an important problem of health care in the territories with cattle – breeding orientation of agriculture. High morbidity remains in Russia year after year. The aim of the study: the investigation of T- and B-cell links in patients with different clinical forms of brucellosis. The content of T- and B-lymphocytes in blood was studied in 322 patients with brucellosis (from them 160 patients had acute brucellosis and 162 had chronic one). With it there was revealed a significant decline of the content of absolute quantity of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes descended in the group of patients with chronic brucellosis and increased in patients with acute brucellosis. Statistically reliable decline of the content CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ cells was noticed with the growth of heaviness of acute brucellosis. Thus, immune dysfunctions develop in patients with brucellosis that testifies to the necessity of the study of T- and B- cell links of immunity side by side with general clinical examination of these patients.

K e y w o r d s : brucellosis, T- lymphocytes, B- lymphocytes.

Бруцеллез является одной из важных проблем стран с животноводческой ориентацией сельского хозяйства, в том числе и России. Наиболее высокая заболеваемость бруцеллезом в России регистрируется в Республиках Дагестан, Тува и Ставропольском крае, где показатели заболеваемости ежегодно составляют 8–10 и более на 100 тыс. населения [6, 8].

Известно, что при инфекционных заболеваниях генерализованного типа с внутриклеточным паразитированием возбудителя важная роль принадлежит Т- и В-клеточным факторам иммунитета [2, 9]. По данным Е.С. Белозерова [1] изменения процесса кооперации иммунокомпетентных клеток, увеличения супрессорной активности Т- и В-лимфоцитов, снижения хелперной активности Т-клеток могут привести к угнетению фагоцитоза.

По данным литературы течение и исход инфекционного заболевания зависят от иммунологической реактивности организма [3, 6]. В литературе сведения о состоянии Т- и В-клеточных звеньев иммунной системы у больных бруцеллезом разноречивы.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я : изучение Т- и В-клеточных звеньев иммунитета у больных с различными клиническими формами бруцеллезной инфекции.

М а т е р и а л и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . Под нашим наблюдением находились 322 больных бруцеллезом (средний возраст $35,5 \pm 0,6$ года), проходивших лечение в 1997–2008 гг. в бруцеллезном отделении Республиканского центра инфекционных болезней (г. Махачкала), из них 243 мужчин (средний возраст – $34,9 \pm 0,8$) и 79 женщин (средний возраст – $37,1 \pm 1,1$).

Наблюдаемые больные были распределены на 2 группы на основании клинико-патогенетической классификации бруцеллеза Г.П. Руднева [4] и В.И. Покровского [3]. В группу 1 вошли 160 (средний возраст 34 ± 1 лет) больных острым бруцеллезом (ОБ). Группу 2 составили 162 больных (средний возраст – $36,8 \pm 0,8$ лет) хроническим бруцеллезом (ХБ) в стадии субкомпенсации и декомпенсации. Среди обследованных больных ОБ легкое течение заболевания имели 57 больных (средний возраст – $33,5 \pm 1,8$ лет), среднетяжелое – 57 ($34,6 \pm 1,6$ лет) и тяжелое – 46 ($33,9 \pm 1,8$ лет).

Изучение возрастного состава показало, что большинство больных – люди наиболее трудоспособного возраста – их средний возраст составил $35,5 \pm 0,6$ лет.

В половой структуре наблюдаемых больных бруцеллезом преобладали мужчины.

У наблюдаемых больных диагноз бруцеллеза был выставлен на основании жалоб, анамнеза, эпидемиологических сведений, клинических данных и результатов бактериологического (выделение гемокультуры *Brucella melitensis*) исследования, результатов серологических реакций Райта и Хеддлсона, внутрикожной аллергической пробы Бюрне, РПГА с эритроцитарным бруцеллезным диагностикумом [7].

Контрольную группу, для сравнительного анализа проводимых исследований составили 30 здоровых лиц (25 мужчин и 5 женщин, средний возраст $28,9 \pm 1,4$ года). У всех обследованных было получено письменное добровольное информированное согласие на проведение исследований.

Всем больным проводились общеклинические лабораторные анализы крови, мочи и кала, иммунологические исследования крови с определением в крови Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций (CD₃-клеток, CD₄-клеток, CD₈-клеток, CD₂₀-клеток) методом поверхностной иммунофлуоресценции по Филатову А.В. с соавт. [5] с использованием моноклональных антител.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Microsoft Excel и Biostat. Данные представлены в виде средней арифметической (М) и ее ошибки (m). Различия считались значимыми при $P < 0,05$ для критерия Стьюдента.

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я и и х о б с у ж д е н и е . Состояние клеточного и гуморального звеньев иммунитета оценивали по содержанию в крови Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций (CD₃, CD₄, CD₈, CD₂₀) (табл. 1).

Как видно из таблицы 1, у больных ОБ и ХБ в сравнении со здоровыми лицами отмечается значительное снижение в периферической крови абсолютного количества CD₃-лимфоцитов ($p < 0,001$), CD₄-лимфоцитов ($p < 0,001$) и CD₈-лимфоцитов ($p < 0,001$). При этом более выраженное снижение CD₃-, CD₄- и CD₈-лимфоцитов отмечается в группе больных ХБ. Количество CD₂₀-лимфоцитов в сравнении со здоровыми лицами снижается в группе больных ХБ ($p > 0,05$) и увеличивается у больных ОБ ($p < 0,001$).

Уменьшение количественного содержания CD₃-, CD₄-, CD₈-клеток в периферической крови больных бруцеллезом связано, по всей видимости, с их перераспределением из периферической крови в

Таблица 1

Показатели Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций в крови у больных с различными клиническими формами бруцеллеза (М ± m)

Клинические формы	CD ₃ ⁺ (10 ⁶ /л)	CD ₄ ⁺ (10 ⁶ /л)	CD ₈ ⁺ (10 ⁶ /л)	CD ₂₀ ⁺ (10 ⁶ /л)
Острый бруцеллез (n = 160)	670,7 ± 23,8**	591 ± 17,2**	525,9 ± 16,3**	525,3 ± 14,7**
Хронический бруцеллез (n = 162)	565,2 ± 20,2** #	453,6 ± 16,7** #	431,8 ± 16** #	190,8 ± 15,4* #
Контрольная группа (n-30)	1451,33 ± 21,4	1027,6 ± 17,4	659 ± 18,2	262,5 ± 8

Примечание. * p < 0,05 по сравнению с контролем; ** p < 0,001 по сравнению с контролем; # p < 0,001 по сравнению с острым бруцеллезом.

ткани и непосредственном участии этих клеток в тканевом воспалительном процессе. Увеличение же содержания в периферической крови CD₂₀-клеток у больных ОБ свидетельствует об активации у этих больных гуморальных механизмов и непосред-

ственным участии CD₂₀-клеток в воспалительном процессе.

Нами выявлена зависимость количества CD₃⁺, CD₄⁺, CD₈⁺ и CD₂₀-клеток от тяжести течения ОБ (табл. 2).

Таблица 2

Показатели Т и В-лимфоцитов и их субпопуляций в крови у больных с различными клиническими формами острого бруцеллеза (М ± m)

Параметры	Контрольная группа, n = 30	Клинические формы острого бруцеллеза (n = 160)		
		Легкая, n = 57	Среднетяжелая, n = 57	Тяжелая, n = 46
CD ₃ (10 ⁶ /л)	1451,33 ± 21,4	766,8 ± 41,5	649,6 ± 35,8*	577,8 ± 43,3**
CD ₄ (10 ⁶ /л)	1027,6 ± 17,4	763,5 ± 26,2	564,7 ± 17,8***	410,2 ± 22,8***
CD ₈ (10 ⁶ /л)	659 ± 18,2	616,1 ± 34,5	521,2 ± 17*	419,8 ± 22,6***
CD ₂₀ (10 ⁶ /л)	262,5 ± 8	368,7 ± 11,3	547,9 ± 12,8***	691,2 ± 30,3***

Примечание. * p < 0,05 по сравнению легким течением; ** p < 0,01 по сравнению легким течением; ***- p < 0,001 по сравнению легким течением.

Как видно из таблицы 2, с нарастанием тяжести течения ОБ отмечается статистически достоверное снижение содержания CD₃⁺, CD₄⁺, CD₈⁺-клеток и увеличение содержания CD₂₀-клеток.

Проведенные исследования выявили у больных бруцеллезом нарушения Т- и В-клеточных звеньев иммунной системы. При этом у больных ОБ и ХБ в сравнении с контрольной группой выявлено значительное снижение содержания в периферической крови абсолютного количества CD₃⁺-лимфоцитов (P < 0,001), CD₄⁺-лимфоцитов (P < 0,001) и CD₈⁺-лимфоцитов (P < 0,001). Количество CD₂₀⁺-лимфоцитов снижалось в группе больных с ХБ и увеличивалось у больных с ОБ (P < 0,001). С нарастанием тяжести течения ОБ отмечалось статистически достоверное снижение содержания CD₃⁺, CD₄⁺, CD₈⁺-клеток и увеличение содержания CD₂₀⁺-клеток. Результаты исследования свидетельствуют об иммунных дисфункциях у больных бруцеллезом, требующих коррекции с использованием иммуномодулирующих препаратов по результатам иммунограмм.

Выводы

1. У больных бруцеллезом отмечаются иммунные дисфункции, проявляющиеся уменьшением содержания в периферической крови абсолютного количества CD₃⁺, CD₄⁺ и CD₈⁺-клеток, а также увеличением количества CD₂₀⁺-клеток у больных ОБ и уменьшением их количества – у больных ХБ.

2. При бруцеллезной инфекции необходима оценка состояния Т- и В-клеточных звеньев иммунитета для адекватной коррекции выявленных дисфункций.

Список литературы

- Белозеров Е.С., Змушко Е.И. Органопатология при бруцеллезе // Сб. научн. трудов VI Республиканской научно-практической конференции «Зоонозы: актуальные проблемы в клинике и эксперименте». – Махачкала, 2000. – С. 131–137.
- Покровский В.И., Онищенко Г.Г., Черкасский Б.Л. Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке (руководство для врачей). – М.: Медицина, 2003. – 664 с.
- Покровский В.И., Пак С.Г. с соавт. Инфекционные болезни и эпидемиология. – М.: Геотар-Мед, 2004. – 816 с.
- Руднева Г.П. Бруцеллез. Клиника, диагностика и лечение. М: Медгиз, 1955. – 259 с.
- Филатов А.В., Бачурин П.С., Маркова Н.А. и соавт. Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов человека с помощью панели моноклональных антител // Гематология и трансфузиология. – 1990. – № 1. – С. 16–19.
- Ющук Н.Д., Венгеров Ю.Я., Островский Н.Н. Бруцеллез (лекции по инфекционным болезням). – М., 2007. – С. 413–428.
- Nielsen K., Smith P., Yu W., Nicoletti P., Elzer P. et al. Towards single screening tests for brucellosis // Rev. Sci. Tech. – 2005. – Vol. 24. – N3. – P. 1027–1037.
- Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N., Chrostou L., Tsianos E.V. The new global map of human brucellosis // Lancet Infect. Dis. – 2006. – Vol. 6. – N 2. – P. 91–99.
- Vingat S., Hoover D.L. T-cell immunity to brucellosis // Crit. Rev. Microbiol. – 2003. – Vol. 29. – N 4. – P. 313–331.

© Е.В. Зубарева, А.А. Шульдяков, А.Д. Трубецков, Е.П. Ляпина, С.А. Сатарова, А.В. Анащенко, 2008

© E.V. Zubareva, A.A. Shuldyakov, A.D. Trubetskov, E.P. Lyapina, S.A. Satarova, A.V. Anashenko, 2008

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ БРУЦЕЛЛЕЗЕ КАК СРЕДСТВО КОРРЕКЦИИ ЭНДОТОКСИКОЗА И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ МИОКАРДА

Е.В. Зубарева¹, А.А. Шульдяков¹, А.Д. Трубецков², Е.П. Ляпина¹, С.А. Сатарова¹,
А.В. Анащенко¹

¹Саратовский государственный медицинский университет Росздрава, Саратов, Россия

²Саратовский научно-исследовательский институт сельской гигиены Роспотребнадзора,
Саратов, Россия

Зубарева Е.В.¹, Шульдяков А.А.¹, Трубецков А.Д.², Ляпина Е.П.¹, Сатарова С.А.¹, Анащенко А.В.¹ Метаболическая терапия при хроническом бруцеллезе как средство коррекции эндотоксикоза и функциональных нарушений миокарда // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 93–95.

¹Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава), 410710, г. Саратов, ул. Казачья, 112, тел.: 8-845-251-12-87

²Федеральное государственное учреждение «Саратовский научно-исследовательский институт сельской гигиены» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФГУН Саратовский НИИ сельской гигиены Роспотребнадзора), 410022, г. Саратов, ул. Заречная, д. 1–А, тел. /факс: 8 (845-2) 92-78-90, тел.: 92-34-94, Эл. почта: niisgsar@rol.ru

Резюме: С целью совершенствование терапии хронического бруцеллеза проведено клинико-инструментальное и лабораторное исследование эффективности цитофлавина в лечении больных хроническим бруцеллезом.

Установлено, что использование цитофлавина в комплексной терапии больных хроническим бруцеллезом позволяет ускорить процесс нормализации параметров липопероксидации, снизить проявления эндотоксикоза и системного воспаления. Данные позитивные эффекты сопровождаются уменьшением проявлений частоты функциональных нарушений со стороны сердечной мышцы у больных с ХБ.

Ключевые слова: бруцеллез, цитофлавин

Zubareva E.V., Shuldyakov A.A., Trubetskov A.D., Lyapina E.P., Satarova S.A., Anashenko A.V. Metabolic therapy in the course of chronic brucellosis as a means for correction endotoxycosis and function anomaly of myocardium // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 93–95.

¹State Educational Establishment of High Professional Training «Saratov State Medical University of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», Russia, 410710, Saratov, Kazathy str., 112, tel.: 8-845-251-12-87.

²Saratov Research Institute of Rural Hygiene of Rospotrebnadzor, 410022, Saratov, Zarechnaya str., 1–A, tel. /fax: 8 (845-2) 92-78-90, tel.: 92-34-94, e-mail: niisgsar@rol.ru

S u m m a r y : The clinical laboratory and instrumental research of Cytoflyavin efficacy in the treatment the brucellosis patients has been carried out in order to improve the chronic brucellosis therapy.

It is established that use cytoflyavin in complex therapy of chronic brucellosis patients allows to speed up the process parameters normalisation of the lypoperoxidation, to reduce manifestations of endogenic intoxication and system inflammations. The given positive effects are accompanied by reduction of evidence frequency functional abnormality of cardiac muscle by patients with chronic brucellosis.

K e y w o r d s : brucellosis, cytoflyavin

Хронический бруцеллез (ХБ) в своем развитии сопровождается формированием двух взаимосвязанных и взаимообусловленных процессов [6] – синдрома эндогенной интоксикации и системного воспаления – с усилением процессов липопероксидации, накоплением в крови токсичных метаболитов, дисбалансом цитокинов, активацией аутоантителогенеза, повышением в крови циркулирующих иммунных комплексов, маркеров воспаления [3, 7]. При этом данные нарушения коррелируют с систоло-диастолической дисфункцией миокарда [1]. Высокий процент инвалидизации, системный характер поражения при ХБ требует комплексной патогенетической терапии, направленной на различные звенья патологического процесса при бруцеллезе [3, 4, 5, 7].

В настоящее время в лечении пациентов с различными нозологическими формами, в патогенезе которых играет значительную роль обменные нарушения и эндотоксикоз, с успехом используют препараты, относящиеся к метаболическим средствам, включающие в том числе янтарную кислоту [2].

Целью работы было изучение влияния комплексной терапии с использованием препарата цитофлавина на клинико-лабораторные показатели, функциональные параметры сердечной мышцы больных с ХБ.

Материалы и методы исследования. Для оценки эффективности включения в комплексную терапию больных ХБ препарата цитофлавина пациенты делились на две основные группы: в 1-й группе (20 человек) к проводимому лечению был добавлен цитофлавин, во 2-й группе (20 человек) – терапия осуществ-

влялась общепринятыми методами. Курс цитофлавина составил 10 дней по 10 мл препарата в разведении на 200 мл 5% раствора глюкозы. Цитофлавин относится к метаболическим препаратам, обладающим антиоксидантной, антигипоксической активностью, улучшающим энергетический баланс клетки, нормализующим углеводный, белковый и жировой обмены. В состав препарата входят в качестве основных фармакологических субстанций янтарная кислота, рибоксин, никотинамид, рибофлавин.

Критерии включения в исследование: больные ХБ в возрасте от 30 до 50 лет с неактивной формой. Критерии исключения: больные с другими формами бруцеллезной инфекции, острыми инфекционными заболеваниями другой этиологии, хроническими заболеваниями внутренних органов в стадии обострения. Дизайн исследования: открытое рандомизированное.

Диагноз «бруцеллез» устанавливался на основании эпидемиологического анамнеза, клинических данных, результатов специальных методов исследования (РПГА с бруцеллезным диагностикумом, реакция Хеддельсона, реакция Райта, определение нуклеиновых кислот возбудителей бруцеллеза в полимеразной цепной реакции, проба Бюрне). Форма бруцеллезной инфекции диагностировалась в соответствии с общепринятыми критериями и классификацией Н.Н. Островского и Ю.Ф. Щербака (1986) [4].

Для оценки функционального состояния сердечно-сосудистой системы проводили доплер-ЭхоКГ на аппарате «Siemens-650», оборудованном электронным датчиком с частотой 2,5 МГц, по стандартной методике с использованием рекомендаций Американского эхокардиографического общества. При анализе диастолического потока крови через левое атриовентрикулярное отверстие учитывались визуальные и количественные характеристики, проводилось сопоставление с систолической функцией левого желудочка. Определяли: максимальные скорости раннего диастолического наполнения (Е) (м/с) и наполнения в систолу предсердий (А) (м/с), отношение скоростей А и Е (А/Е), интегральные скорости раннего (Ei) (см) и пресистолического (Ai) (см) наполнения и их соотношение (Ai/Ei), общая интегральная скорость наполнения (Tvi) (см).

Уровень интерлейкина-1 β (IL-1 β), фактора некроза опухоли (TNF- α) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем ТОО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург). Для оценки состояния системы перекисного окисления липидов (ПОЛ) исследовали уровни диеновых конъюгатов (ДК) (методика В.Б. Гавриловой и М.И. Мишкорудной, 1983), активность супероксиддисмутазы (СОД) (методика Fried R., 1975). Показатель С-реактивного белка (СРБ) определяли иммунотурбидиметрическим методом с использованием реактива DiaSys Diagnostik Systems, Германия). Параметры средних молекул (СрМ) оценивали методом Габриэлян Н.И., Липатовой В.И. (1984).

Клинико-инструментальные и лабораторные исследования проводились двукратно: перед началом лечения и через 1–2 дня после завершения курса терапии. Группу сравнения, сопоставимую по возрасту и полу с больными ХБ, в которой исследовались уровни в крови цитокинов, СрМ, СРБ, а также параметры системы ПОЛ/антиоксидантная защита, составили 20 доноров.

Полученные результаты обрабатывались статистически с помощью компьютера Pentium IV и пакетов программ для статистической обработки «Microsoft Excel for Windows 4,0» («Microsoft Corp») и «Statistika 6,0».

Результаты исследования и их обсуждение. При анализе полученных результатов установлено, что, по данным доплер-ЭхоКГ, неактивные формы бруцеллеза (ХНБ) сопровождались высокой частотой диастолической дисфункции миокарда (по релаксационному типу) – в 40% случаев, и существенно реже (в 10% случаев) признаками незначительного снижении сократительной способности сердечной мышцы.

Также констатируется, что ХНБ протекает на фоне эндогенной интоксикации и системного воспаления со значительно увеличением параметров СрМ, ДК, снижением активности СОД, а также существенным повышением активности провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β) с ростом уровня СРБ (табл. 1).

Таблица 1

Показатели эндотоксикоза и воспаления у больных хроническим неактивным бруцеллезом в группах с различными методами терапии (М \pm m)

Показатели	Здоровые (n = 15)	1 группа (цитофлавин) n = 20		2 группа (контроль) n = 20	
		до лечения	12–13 день	до лечения	12–13 день
Средние молекулы (опт. ед.)	0,26 \pm 0,01	0,36 \pm 0,01*	0,30 \pm 0,01*,**	0,38 \pm 0,02*	0,35 \pm 0,01*
Диеновые конъюгаты (усл. ед.)	5,98 \pm 0,21	6,85 \pm 0,11*	6,33 \pm 0,13*,**	6,87 \pm 0,14*	6,65 \pm 0,12*
Активность СОД, (усл. ед.)	310,5 \pm 20,5	237,2 \pm 1,9*	276,2 \pm 4,5*,**	236,9 \pm 2,1*	245,2 \pm 3,9*
IL-1 β (пг/мл)	61,4 \pm 6,2	164,8 \pm 8,6*	134,2 \pm 5,9*,**	162,0 \pm 8,9*	157,6 \pm 3,8*
TNF- α (пг/мл)	53,1 \pm 6,4	165,1 \pm 4,2*	141,9 \pm 4,1*,**	164,7 \pm 4,3*	153,9 \pm 3,1*
С-реактивный белок (мг/мл)	0,76 \pm 0,04	22,2 \pm 1,3*	15,2 \pm 1,1*,**	21,9 \pm 1,4*	18,1 \pm 0,9*

Примечание. * – различия достоверны (p < 0,05) при сравнении с группой контроля; ** – различия достоверны (p < 0,05) при сравнении 1-й и 2-й групп

Сравнительный анализ лабораторных показателей по окончании терапии (12–13 день от момента госпитализации) позволил констатировать, что в 1-й группе больных, в комплексном лечении которых использовался цитофлавин, нормализация параметров липопероксидации (ДК, СОД), маркера эндотоксикоза (СрМ), а также снижение уровня провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β) и СРБ происходило достоверно ($p < 0,05$) динамичнее, чем во 2-й группе (табл. 1). Таким образом, цитофлавин, как комплексный препарат, имеющий в своем составе средства с синергидными метаболическими эффектами позволяет редуцировать нарушения в различных звеньях гомеостаза больного с ХБ.

Повторное доплер-ЭхоКГ обследование через 12–14 дней от начала лечения выявило, что количество пациентов с проявлениями диастолической дисфункции по релаксационному типу уменьшилось до 25%, а параметры сниженной сократительной функции миокарда нормализовались у всех больных. Следовательно, комбинированная метаболическая терапия обеспечила уменьшение частоты функциональных сдвигов со стороны сердечной мышцы у пациентов с ХНБ на фоне динамичного восстановления показателей отражающих эндогенную интоксикацию и системное воспаление.

З а к л ю ч е н и е . Использование в комплексном лечении больных с хроническим бруцеллезом комбинированного препарата цитофлавин позволяет снизить частоту проявления и выраженность систо-

ло-диастолической дисфункции миокарда, а также уменьшить проявления эндогенной интоксикации и воспаления.

Список литературы

1. Зубарева Е.В., Шульдяков А.А., Трубецков А.Д. Диастолическая, систолическая функции сердца и синдром эндогенной интоксикации при хроническом бруцеллезе // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – № 4. – 2007. – С. 169–173.
2. Ивницкий Ю.Ю. Янтарная кислота в системе метаболической коррекции функционального состояния и резистентности организма. СПб, 1998. – 82 с.
3. Ляпина Е.П., Шульдяков А.А., Кожевникова Г.М. Эффективность использования циклоферона в комплексном лечении больных с хроническим бруцеллезом // Врач. – 2006. – № 12. – С. 35–38.
4. Островский, Н.Н. Бруцеллез/Н.Н. Островский, Ю.Ф. Щербак // В кн. Руководство по инфекционным болезням / Под ред. В.И. Покровского, К.М. Лобана. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1986. – С. 135–148.
5. Покровский В.И., Пак С.Г. Инфекционные болезни и эпидемиология. – М.: ГЭОТАР-Мед., 2004. – 816 с.: ил. – 2-е изд. испр. – С. 549–559.
6. Чеснокова Н.П., Михайлов А.В. Воспаление. – Саратов: Изд-во Саратовского гос. мед. ун-та, 1999. – 165 с.
7. Шульдяков А.А., Гладиллина Е.Г., Ляпина Е.П., Бережнова И.А. Хронический бруцеллез: диагностическое значение параметров системы липопероксидации, цитокинового профиля и маркеров синдрома эндогенной интоксикации // Инфекционные болезни. – 2006. – Т. 4. – № 2. – С. 48–50.

© М.Г. Позднякова, Е.В. Эсауленко, А.А. Го, О.В. Атарская, И.В. Амосова, М.А. Попкова, М.К. Ерофеева, 2008

© M.G. Pozdnyakov, E.V. Esaulenko, A.A. Go, O.V. Atarskaya, I.V. Amosova, M.A. Popkova, M.K. Erofeeva, 2008

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «ПОЛУДАН» В ТЕРАПИИ ГРИППА И ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

М.Г. Позднякова¹, Е.В. Эсауленко¹, А.А. Го¹, О.В. Атарская², И.В. Амосова¹, М.А. Попкова², М.К. Ерофеева¹

¹Государственное учреждение Научно-исследовательский институт гриппа Российской Академии Медицинских Наук, Санкт-Петербург, Россия

²Территориальное медицинское объединение № 32, Санкт-Петербург, Россия

Позднякова М.Г., Эсауленко Е.В., Го А.А., Атарская О.В., Амосова И.В., Попкова М.А., Ерофеева М.К. Возможность применения препарата «Полудан» в терапии гриппа и острых респираторных вирусных инфекций // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 95–99.

Государственное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа» Российской академии медицинских наук, Санкт-Петербург, Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 15/17, тел./факс: +7 (812) 2346200, e-mail: office@influenza.spb.ru
Территориальное медицинское объединение № 32, Россия, 197022, Санкт-Петербург, Вяземский пер., 3, тел./факс: +7 (812) 3461964 e-mail: p32@zdrav.spb.ru

Р е з ю м е . Среди многочисленной группы препаратов, рекомендованных для раннего лечения ОРВИ и гриппа, выделяют индукторы интерферона. Отечественный препарат, индуктор эндогенного интерферона – Полудан, обладает прямой противовирусной активностью. В работе продемонстрирован опыт применения интраназальной формы препарата Полудан для раннего лечения ОРВИ и гриппа у взрослых. Использование этого препарата для лечения ОРВИ и гриппа интраназально по 3 капли в каждый носовой ход 5 раз в день в течении 5 дней, оказалось эффективным у взрослых и выразилось в сокращении продолжительности симптомов заболевания – лихорадки, интоксикации и длительности заболевания.

К л ю ч е в ы е с л о в а : грипп, раннее лечение, индукторы интерферона.

Pozdnyakov M.G., Esaulenko E.V., Go A.A., Atarskaya O.V., Amosova I.V., Popkova M. A., Yerofeeva M. K. Possibility of «Poludanum» use in flu and acute respiratory viral infections therapy // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy.– 2008.– № 3 (28).– P. 95–99.

Research Institute of Influenza RAMS, Russia, 197022, St-Petersburg, prof. Popova street, 15/17, tel. / fax.: +7 (812) 234–6200, fax: +7 (812) 234–6200, e-mail: office@influenza.spb.ru

Dispensary № 32, Russia, 197376, St-Petersburg, Vjazemskij str., 3, тел. tel. / fax: +7 (812) 3461964 e-mail: p32@zdrav.spb.ru
S u m m a r y . Interferon inductors form a separate group among numerous preparations for early therapy of influenza and acute respiratory viral infections. Russian preparation «Poludan», endogenous interferon inductor, possesses the direct antiviral activity. The effect of intranasal application of «Poludan» preparation for early therapy of influenza and ARVI in adults is presented in this article. Intranasal application of this preparation for early therapy of influenza and ARVI in adults in dosage 3 drops in each nostril 5 times daily during 5 days leads to reduction of symptoms duration – fever, intoxication – and disease duration.

K e y w o r d s : influenza, early therapy, interferon inductors.

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) по значимости занимают лидирующее место среди инфекционных заболеваний вирусной этиологии. На протяжении последнего десятилетия в РФ ежегодно официально регистрируется от 27,3 до 47,2 млн случаев в зависимости от интенсивности эпидемии. В сезоне 2004–2005 гг. в целом по стране эпидемия продолжалась 14 недель и закончилась только в начале апреля 2006г. В 2006г. показатель заболеваемости гриппом в общей этиологической структуре ОРВИ составил около 10%. Ежегодно от гриппа и его осложнений умирает более полумиллиона человек (Schmidt A C., 2004).

В настоящее время класс противовирусных химиопрепаратов включает ремантадин, арбидол, озельтамивир. Следует отметить, что за последние 10 лет частота случаев лекарственной устойчивости к вышеуказанным препаратам в среднем выросла до 12,3%. Большинство вирусов ОРВИ достаточно чувствительны к интерферонам 1-го типа (Ершов Ф.И., Киселев О.И., 2005). Вместе с тем, ряд возбудителей респираторных вирусных инфекции проявляют свойства антагонистов интерферонов 1-го типа. Процессы противостояния вируса и инфицированных клеток охватывают первые два дня инфекционного процесса. Степень подавления синтеза интерферона прямо коррелирует с патогенностью возбудителя. В первую очередь это обстоятельство относится к вирусам птичьего гриппа и коронавирусам. В связи с этим использование препаратов на основе рекомбинантного альфа-2-интерферона в предпандемический период и при угрозе птичьего гриппа приобретают особую актуальность. В основном это связано с низкой стабильностью рекомбинантных препаратов. В последние годы предпринимаются активные попытки создания стабильных и высокоэффективных форм этих средств для широкого использования в период эпидемии гриппа.

Значительное внимание привлекает к себе отечественный препарат «Полудан», разработанный и выпускаемый ООО «ЛЭНС-Фарм» (Москва) во флаконах в виде лиофилизата. В одном флаконе содержится калиевая соль 0,1 мг полирибоадениловой кислоты, калиевая соль 0,107 мг полирибоуридиловой кислоты, забуференный физиологический раствор до 1 мл...

По данным разработчика и изготовителя, препарат обладает прямым противовирусным действием в отношении вирусов ОРВИ, включая грипп и грипп,

птичьего происхождения. Кроме того, препарат «Полудан» является индуктором эндогенного интерферона. По данным экспериментальных исследований, он стимулирует выработку не только интерферона – альфа, но бета- и гамма-. Препарат обладает также и противовоспалительным свойством.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я : оценить безопасность, переносимость и лечебную эффективность препарата «Полудан» в терапии ОРВИ и гриппа у взрослых.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . Под наблюдением находились 100 взрослых пациентов в возрасте от 18 до 65 лет с клинически установленным диагнозом гриппа или ОРВИ. В зависимости от схемы терапии, они были подразделены на две группы:

1. Первую (основную) группу составили 52 пациента, которые получали препарат «Полудан» интраназально по 3 капли 5 раз в день после туалета носовых ходов (согласно инструкции) в течение 5 дней. Препарат «Полудан» применяли по утвержденному Протоколу исследования без назначения других противовирусных препаратов. Применение препарата сопровождалось коротким массажем носовых ходов для лучшего всасывания в слизистую.

2. Вторую группу (контроля) составили 41 пациент, которые получали препарат «Оксалиновая мазь» интраназально 3 раза в день после туалета носовых ходов (согласно инструкции) в течение 5 дней. Применение препарата сопровождалось коротким массажем носовых ходов для лучшего всасывания в слизистую.

Симптоматическая, патогенетическая (базисная) терапия назначалась пациентам обеих групп по показаниям. В состав базисной терапии включали местные адrenomиметики, отхаркивающие, жаропонижающие (в случаях повышения температуры 38,5°C и выше) препараты, витамины. Базисная терапия в основной и контрольной группах была одинаковой.

Всем больным, в соответствии с установленным графиком, проводили клинический осмотр, в ходе которого измерялись температура тела, артериальное давление и пульс, регистрировались жалобы пациентов, исследовали клинические показатели.

Забор смывов из полости носа с последующим приготовлением мазков проводился перед началом и по окончании терапии. Этиологию заболевания устанавливали иммунофлюоресцентным (ИФ) экспресс-мето-

дом с идентификацией вирусов гриппа, парагриппа, адено- и РС-инфекций. Для идентификации вышеуказанных вирусов проведена ПЦР – диагностика.

В течение всего исследования при осмотре врача и введении препарата проводилась регистрация нежелательных явлений, связанных с применением «Полудана».

При анализе результатов исследования использовали методы описательной статистики (определение средних значений, и стандартного отклонения),

достоверность различий оценивали по методу Манна-Уитни. Значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты исследования. По доминирующим признакам: полу, возрасту больных, срокам развития болезни, нозологическому диагнозу, формам тяжести и клиническим проявлениям заболевания, а также характеру сопутствующей патологии наблюдаемые группы больных были репрезентативны (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика наблюдаемых больных с ОРВИ и гриппом при исследовании лечебной эффективности препарата «Полудан» – интраназальное введение

Группы наблюдения	Количество, чел.		Возраст, годы	
	Женщин	Мужчин	М ± m	Достоверность разности средних р
Опытная N = 52	16	36	28 ± 11	> 0.05
Контрольная N = 41	13	28	32,6 ± 15,5	

Результаты исследования при анализе клинических проявлений заболевания и их выраженности показали, что у всех больных заболевание начиналось ос-

тро – повышением температуры тела, симптомами интоксикации, катаральными проявлениями в носоглотке, поражением трахеи и гортани (табл. 2).

Таблица 2

Характеристика клинической симптоматики у больных при исследовании лечебной эффективности препарата «Полудан»

Клинические симптомы		Группы наблюдения			
		Полудан n = 52		Контроль n = 41	
		Абс.	%	Абс.	%
Повышение t°C (100%)	37,0–37,9	26	50	24	56,1
	38,0–38,9	26	50	27	43,9
Интоксикация	Слабость	48	92,3	39	95,1
	Ломота	30	57,7	36	87,8
	Головная боль	44	84,6	31	75,6
Катаральные симптомы	Кашель	42	80,7	31	75,6
	Заложенность носа	38	73	28	68,2
	Сыпь	0	0	0	0
	Боль в горле	14	26,9	10	24,4
	Ринит	42	80,7	35	87,8
	Чихание	21	40,4	21	51,2

Характер лихорадочной реакции в сравниваемых группах был примерно одинаковым с преобладанием повышения температуры тела в диапазоне 38,0–38,9°C. Лихорадка выше 39°C не регистрировалась ни в основной, ни в контрольной группе. Одинаково часто наблюдалась интоксикация, преимущественно в виде снижения аппетита и адинамии или беспокойства; реже регистрировалась головная боль. Из катаральных симптомов в носоглотке имели место ринит, проявления фарингита и ларинготрахеита.

Этиология ОРВИ у наблюдаемых была различной. Процент подтверждения был довольно высоким (51,9% – среди получавших препарат, 51,0% – в группе сравнения). По данным ИФА, в обеих группах доминировали заболевания аденовирусной и

парагриппозной этиологии в виде моно-инфекции. Из вирусов гриппа преобладало обнаружение антигенов вирусов гриппа типа H3N2 и H1N1, в единичных случаях – типа В в виде моно- или микст-инфекции.

Проведенные наблюдения показали, что интраназальное введение препарата Полудан в 1–2 день заболевания способствует более быстрому купированию всех симптомов острого инфекционного поражения респираторного тракта, обусловленного указанными возбудителями: лихорадочной реакции, явлений интоксикации, катаральных симптомов в носоглотке. Различия продолжительности указанных симптомов сравниваемых групп статистически достоверны ($p < 0,05$) (табл. 3).

Таблица 3

Результаты исследования лечебной эффективности препарата «Полудан» у больных гриппом и ОРВИ

Группа	Число больных	Лихорадочная реакция	Продолжительность клинических симптомов, в днях			
			Интоксикация		Катаральные симптомы в носоглотке	
Основная	52	1,8 ± 0,6	слабость	головная боль	ринит	кашель
Контрольная	41	2,3 ± 0,8	1,8 ± 0,8	0,8 ± 0,2	2,7 ± 1,6	2,0 ± 1,3
		p < 0,05	2,6 ± 0,9	1,5 ± 1,0	3,1 ± 1,6	2,9 ± 1,7
			p < 0,05	ns	ns	p < 0,05

Примечание. ns – p > 0,05

Таблица 4

Динамика температурной реакции у больных с ОРВИ при исследовании «Полудан» интраназальное применение

Время от начала лечения (в часах)	Наблюдаемые группы											
	Основная n = 52						Контрольная n = 41					
	Всего с повышенной t°		в том числе:				Всего с повышенной t°		в том числе:			
			37,0–37,9		38,0–38,9				37,0–37,9		38,0–38,9	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
До	52	100	26	50	26	50	41	100	24	43,9	27	56,1
Через 24 ч	40	76,9	38	95,0	2 *	5,0	37	90,2	31	83,7	6	16,3
Через 48 ч	12	23	12 *	100	0		12	28,5	11	91,7	1	8,3
Через 72 ч	2 *	3,8	2	100	0		4	9,7	4	100	0	
Через 98 ч	0 *		0		0		1	2,4	1	100	0	

Примечание. * - Различия достоверны (p < 0,05) при сравнении соответствующего показателя с группой контроля.

Особенно четко было показано положительное влияние препарата «Полудан» на динамику температурной реакции.

До начала лечения ее структура у больных в сравниваемых группах была практически одинакова: около половины случаев заболеваний с повышением температуры > 38°C в основной и контрольной группах.

На следующий день (через 24 часа) после начала применения препарата «Полудан» интраназально число случаев ОРВИ с повышенной температурой достоверно сократилось, особенно за счет уменьшения частоты указанной лихорадочной реакции (табл. 4).

Переносимость препарата у всех больных была хорошей. Побочных реакций в виде болей в животе, тошноты, рвоты, диспепсических явлений, ощущения комка или инородного тела, сухости/саждения в горле, связанных с получением Полудана, не отмечены. На фоне терапии «Полуданом» не было выявлено аллергических реакций: сыпи, зуда.

Таким образом, интраназальное применение препарата Полудан не вызывало появления каких-либо субъективных жалоб у больных и не сопровождалось развитием побочных эффектов. Проведенное исследование показало, что препарат Полудан безопасен и хорошо переносится при гриппе А, В и аденовирусной инфекции.

З а к л ю ч е н и е . Число эффективных препаратов против вируса гриппа в настоящее время ограничено. Проведенные клиничко-лабораторные наблюдения за больными, получавшими препарат «Полудан» в составе комплексной терапии, показали, что препарат обладает лечебной эффективностью и может быть использован при лечении гриппа и ОРВИ.

Применение данного препарата в ранние сроки ОРВИ способствуют сокращению продолжительности всех симптомов заболевания (кроме кашля), особенно лихорадки, синдрома интоксикации, а также длительности заболевания.

Следует отметить, что в ходе проведенных испытаний в 2% случаев были выявлены нежелательные явления в виде длительного чихания.

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования препарата «Полудан» с лечебной целью у взрослых при гриппе и других ОРВИ в связи с его высокой противовирусной и детоксикационной эффективностью, хорошей переносимостью и безопасностью.

В ы в о д ы

1. Использование ПОЛУДАНА в комплексной терапии ОРВИ, включая грипп, способствует сокращению продолжительности лихорадки, симптомов синдрома интоксикации, а также сроков купирования катаральных явлений.

2. Случаев гиперчувствительности к ПОЛУДАНУ не выявлено, препарат хорошо переносится и не имеет противопоказаний ПОЛУДАН при ОРВИ и гриппе необходимо назначать по 2 капли в каждую ноздрю 5 раз в день в течение 5 дней у взрослых в острый период заболевания – не позднее 24–48 часов с момента появления первых симптомов.

Список литературы

1. Грипп и другие респираторные вирусные инфекции: эпидемиология, профилактика, диагностика и терапия / под ред. Киселева О.И., Маринича О.Г., Сомининой А.А. – Санкт-Петербург. – 2003. – 244 с.

2. Деева Э.Г., Киселев О.И. Грипп птиц; происхождение инфекционных биокатастроф (Антивирусные препараты для лечения гриппа). – Санкт-Петербург – 2005. – 347 с.

3. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). – М., Изд. «Геотар – Медиа». – 2005. – 356 с.

4. Островский Н.Н., Белова Е.Г. Острые респираторные заболевания // Ж. Лечащий врач. – 2001. – № 8. – С. 26–30.

5. Hilleman M.R. Realities and enigmas of human viral influenza: pathogenesis, epidemiology and control // Vaccine. – 2002. – Vol. 20. – P. 3068–3087.

6. Schmidt A.C. Antiviral therapy for influenza a clinical and economic comparative review. // Drugs. – 2004. – № 64. – P. 2031–2046.

© О.Д. Васильев, Д.А. Светлов, С.В. Черепанов, А. Лалу, 2008

© O.D. Vasilyev, D.A. Svetlov, S.V. Cherepanov, A. Lалу, 2008

НОВЫЙ СПОРОЦИДНЫЙ АНТСЕПТИК – «ТЕФЛЕКС А»

О.Д. Васильев¹, Д.А. Светлов², С.В. Черепанов², А. Лалу¹

¹Санкт-Петербургская государственная медицинская академия имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

²Закрытое акционерное общество «Софт-Протектор», Санкт-Петербург, Россия

Васильев О.Д., Светлов Д.А., Черепанов С.В., Лалу А. Новый спороцидный антисептик – «Тефлекс А» // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 99–102.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУВПО СПб ГМА им. И.И. Мечникова Росздрав), 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47 Тел. (812) 543-96-09, факс: (812) 140-15-24 Эл. почта: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

Р е з ю м е : Актуальным для медицины является вопрос разработки новых спороцидных препаратов, убивающих споры бактерий как в окружающей среде, так и на поверхности кожи и слизистых человека. Работа посвящена определению спороцидных свойств у нового кожного антисептика, выпускаемого фирмой «Софт-Протектор» – нового производного полигуанидина «Тефлекс А». Установлено, что «Тефлекс А», водорастворимый, нетоксичный антисептик, образующий молекулярную пленку на поверхностях, обладает мощным вирулоцидным, антибактериальным, антифунгальным действием in vitro и in vivo. У «Тефлекса А» выявлены сильные спороцидные свойства против эндоспор бактерий Clostridium и Bacillus, вызывая их редукцию до 10^{-4} – 10^{-6} . Антимикробные и спороцидные свойства позволяют отнести препарат к дезинфектантам высокого уровня и применять для целей эффективной антисептики и химической стерилизации инструментов.

К л ю ч е в ы е с л о в а : спороцид, антисептик, полигуанидин, дезинфекция.

Vasilyev O.D., Svetlov D.A., Cherepanov S.V., Lалу A. New sporocidal antiseptic – «Teflex A» // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 99–102.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 740-15-24, e-mail: mechnik@westcall.net

S u m m a r y : Actual question for medicine is development of new sporocidal preparations killing bacterial spores as at the environmental so at the skin and mucosals of humans. The paper is devoted to characteristics of sporocidal properties of the new skin antiseptic «Teflex A», derivate of polyhexametilen guanidin, produced by the company «Soft – Protector». It is established that «Teflex A» is water-soluble, bactericide, fungicide action in vitro and in vivo. «Teflex A» expresses high sporocidal action against Clostridia and Bacillus endospores with reduction 10^{-4} – 10^{-6} . Antimicrobial and sporocidal properties allows to put «Teflex A» in the list of high level disinfectants and use it for skin and mucosals disinfection and for chemical sterilization of instruments.

K e y w o r d s : sporocid, antiseptic, polyhexametilen guanidin, disinfection.

Спороциды – это химические вещества, которые убивают споры бактерий. Споры бактерий (родов Clostridium, Bacillus) значительно более резистентны, чем все вегетативные формы бактерий, включая Mycobacterium, а также вирусы, грибы и простейшие. Поэтому спороциды применяются для так называемой химической стерилизации. Более точно этот процесс следует называть «дезинфекцией высокого уровня», а споро-

цидность является атрибутом дезинфектантов высокого уровня, к которым относят перекись водорода (6%), глутаральдегид (2%), надуксусную кислоту (5%) [2].

Антисептические препараты, производящие де-контаминацию кожи, слизистых и раневых поверхностей человека, относят к дезинфектантам низкого или среднего уровня, убивающим вирусы, бактерии, простейшие, но не споры бактерий [2].

В то же время, спороцидность является чрезвычайно важным свойством дезинфектантов кожи, применяемых в хирургической практике, так как операционное поле, руки хирургов и медицинского персонала должны быть свободны от спор бактерий, в частности, способных вызвать столбняк или газовую гангрену [2].

Группа гуанидиновых дезинфектантов является производными гуанидина. Гуанидиновые соединения широко распространены в живой природе, например, являются компонентами нуклеиновых кислот. Известны лекарственные препараты на основе гуанидиновых соединений: стрептомицин, фарингосепт [1].

Полимерные дезинфектанты на основе гуанидина являются производными полигексаметиленгуанидина (ПГМГ). Это высокоэффективные противомикробные и безопасные для человека и животных биоцидные препараты, нетоксичные, неаллергенные, водорастворимые, сохраняют стабильность и антимикробную активность длительное время.

Ц е л ь р а б о т ы – определение спороцидных свойств у нового кожного антисептика «Тефлекс А», производного ПГМГ-хлорида

Материалы и методы исследования. Испытано новое производное ПГМГ «Тефлекс А», разработанное фирмой ЗАО «Софт-Протектор» и сертифицированное в качестве кожного антисептика в 2007 г.

Средство «Тефлекс А» представляет собой прозрачную жидкость светло-желтого цвета с действующим веществом – модификацией ПГМГ в концентрации водного раствора 0,4%, рН $6,5 \pm 1,0$.

«Тефлекс А» испытан на токсичность и безопасность в соответствии с ГОСТ 12.1.007–76 (п. 1.2, 1.3), «Нормативные показатели безопасности и эффективности дезинфекционных средств, подлежащие контролю при проведении обязательной сертификации» № 01–12/75–97 (п. 1.1–1.7, 2.1–2.9); МУ 1.2.1105–02 и «Методы испытаний дезинфекционных средств для оценки их безопасности и эффективности» М., 1998, ч. 1, 2. в Аккредитованном испытательном центре ФГУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологий».

Параметры оценки включали острую токсичность при введении в желудок, на неповрежденную кожу, при ингаляции, на слизистые, аллергенные свойства (ГНТ, ГЗТ). По изученным параметрам средство «Тефлекс А» относится к IV классу мало опасных веществ, не обладает раздражающим действием на кожу, не обладает sensibiliziruyemyy активностью [2].

Вирулоцидные свойства препарата изучены в суспензионных опытах с тест – вирусами: аденовирусом 6 серотипа, вирусом полиомиелита 1 типа и вирусом гепатита В в культуре клеток Нер-2 методами световой микроскопии и методами флюоресцирующих антител и ПЦР в экспертной лаборатории МЗРФ «Городского диагностического вирусологического центра СПб» и в Аккредитованном Испытательном лабораторном центре (ИЛЦ) ФГУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологий».

Антибактериальные и антифунгальные свойства препарата *in vitro* определяли против *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Penicillium chrysogenum* и *Aspergillus fumigatus* в Испытательном центре кафедры микробиологии СПб-ГМА им. И.И. Мечникова.

Экспертная оценка антисептических свойств «Тефлекс А» *in vivo* была проведена в Аккредитованном Испытательном лабораторном центре (ИЛЦ) ФГУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологий» с участием 15 испытателей в условиях искусственного обсеменения поверхности рук взвесью тест-культуры *E. coli*, в отношении естественной микрофлоры рук, при обработке рук хирургов, кожи инъекционного и операционного поля.

Спороцидная активность «Тефлекса А» против бактериальных эндоспор определялась в 3-х независимых лабораториях:

В Аккредитованном Испытательном лабораторном центре (ИЛЦ) ФГУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологий» в 2008 году в отношении спор тест – штамма *Clostridium perfringens* № 276 чашечно-суспензионным методом при микробной нагрузке 10^5 КОЕ/мл и 10^7 КОЕ/мл при времени действия препарата 10 сек, в том числе в условиях органической нагрузки (50% сыворотки).

Laboratory of Hygiene and Microbiology, Dept. of Public Health, University of Helsinki в 2006 году проводила исследования спороцидной активности в соответствии с европейским стандартом EN 13704 IDS с тест-штаммом *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) суспензионным методом

Prince Edward Island Food Technology Center, Bedfordshire, England. Исследования проводились в декабре 2007 года с тест-штаммом *Clostridium difficile* (ATCC 9689) суспензионным методом с временем контакта с препаратом от 28 сек до 15 мин.

Результаты исследования. В стандартных испытаниях антисептик «Тефлекс А» в рабочей концентрации оказывает микробоцидное действие на вирусы (аденовирус, полиовирус, вирус гепатита В), грам-положительные и грам-отрицательные бактерии, дрожжеподобные и плесневые грибы, а также на микобактерии. Количество клеток бактерий грибов и вирионов в результате контакта с препаратом снижается в 10^5 – 10^6 раз, что подтверждает его высокую дезинфицирующую активность. Согласно методикам немецкого общества гигиены и микробиологии способность дезинфектанта инактивировать вирус гепатита В также дает информацию о его эффективности против ВИЧ.

В опытах *in vivo*, проведенных в Аккредитованном Испытательном лабораторном центре (ИЛЦ) ФГУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологий» обработка рук в течение 15 сек препаратом «Тефлекс А» приводила к 100% гибели нанесенной на кожу тест-культуры *E. coli*, уровень естественной микрофлоры снижался на 95,6–98,5%. Обработка рук хирургов и операционного поля с участием испытателей была

высокоэффективной с достижением 100% элиминации естественной микрофлоры и тести-культуры *E. coli*. При обработке кожи инъекционного поля методом орошения или притиранием достигалось снижение микробной контаминации на 99,99%.

Таким образом, полученные в экспериментах *in vivo* и *in vitro* результаты подтверждают соответствие средства «Тефлекс А» (Россия) российским нормативным требованиям к кожному антисептику.

В 2007–2008 гг. проведены исследования *in vitro* по оценке спороцидной активности средства «Тефлекс А» в отношении бактериальных спор. Испытание в Аккредитованном Испытательном лабораторном центре (ИЛЦ) ФГУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологий» показало, что при рабочей концентрации действующего вещества 0,4% «Тефлекс А» вызвал 100% гибель спор *Clostridium perfringens* при концентрации 10^5 КОЕ/мл и 99,9% гибель при концентрации 10^7 КОЕ/мл, что соответствует в среднем редукции спор в 10^4 раз.

При оценке спороцидной активности в Испытательном центре Англии было показано, что при исследовании взвеси *Cl. difficile* в концентрации $5 \cdot 10^6$ при рабочей концентрации «Тефлекс А» 0,4% через 28 секунд наступало полное уничтожение клеток *Cl. difficile*.

Оценка спороцидной активности «Тефлекс А» в лаборатории Университета Хельсинки против спор *V. subtilis* подтвердила высокую спороцидную активность, составлявшую более 10^{-5} КОЕ/мл.

Обсуждение результатов исследования. ПГМГ является полимером, обладающим сильным биоцидным действием в отношении вирусов, бактерий, грибов (дрожжеподобных и мицелиальных, включая споры и конидии грибов).

В России зарегистрированы и разрешены к применению аналоги на основе ПГМГ препараты Полисепт (полигексаметиленгуанидин-гидрохлорид) и Фогуцид (полигексаметиленгуанидин-фосфат) для целей дезинфекции в быту, на предприятиях пищевой промышленности и в медицинских учреждениях. На основе ПГМГ разработаны и выпускаются высокоэффективные моюще-дезинфицирующие средства: БИОР, АВАНСЕПТ, Славин (Белоруссия). В 2004 году фирмой ЗАО «Софт-Протектор» в 2004 году зарегистрировало новое дезинфицирующее средство на основе ПГМГ «Тефлекс-Дез» [3].

В 2008 году зарегистрировано в качестве нового антисептика средство «Тефлекс А», синтезированное в ЗАО «Софт-Протектор» (Санкт-Петербург) на основе ПГМГ-гидрохлорида. Новое средство «Тефлекс А» предназначено для обработки рук хирургов, операционных медицинских сестер, акушеров и других лиц, участвующих в проведении операций, приеме родов, локтевых сгибов доноров, а также для обработки кожи операционного и инъекционного полей пациентов ЛПУ: для гигиенической обработки рук медицинского персонала ЛПУ, медицинских работников детских дошкольных и школьных учреждений, учреж-

дений соцобеспечения, работников химико-фармацевтических, биотехнологических и парфюмерно-косметических предприятий, санаторно-курортных учреждений, предприятий общественного питания, объектов коммунальных служб, а также для гигиенической обработки кожи рук и инъекционного поля населением в быту [3].

В опытах *in vitro* и в испытаниях *in vivo* подтверждена высокая биоцидная эффективность препарата в рабочей концентрации против вирусов (тест-объекты: аденовирус, полиовирус, вирус гепатита В), против грам-положительных (*Staph. aureus*, *Bac. cereus*) и грам-отрицательных бактерий (*E. coli*, *Pseud. aeruginosa*, *Proteus mirabilis*), дрожжеподобных грибов (*Candida albicans*), плесневых грибов (рода *Aspergillus*, *Penicillium*), а также против микобактерий (*Mycobacterium B₅*).

Сравнение активности «Тефлекс А» с 18 наиболее популярными в России антисептиками (АХД 2000 – специальь, Amphisept, хлоргексидина раствор 0,05%, люголя раствор с глицерином, протаргола раствор 2%, мирамистина раствор 0,01%, йодинол, эфирное масло чайного дерева, раствор борной кислоты 3%, фукарцин, йода раствор 5%, бриллиантового зеленого раствор 1%, масло Тимьяна Кочи, масло эвкалиптовое, масло мятное, тминное масло, фурацилина раствор 0,02%, раствор спирта 70%) показало, что по антибактериальной и антигрибковой активности он находится в группе из 4-х таких наиболее активных препаратов, как АХД 2000 – специальь, хлоргексидина раствор 0,05%, раствор йода 5% [3].

Помимо высокой активности препарата против вегетативных форм бактерий, установлено его высокое (до 10^{-4} – 10^{-5}) спороцидное действие против эндоспор бактерий родов *Bacillus* и *Cladosporium*.

Мы считаем, что по полученным нами совокупным данным, «Тефлекс А» как новый спороцидный вариант ПГМГ, следует отнести к дезинфектантам высокого уровня и расширить его применение для дезинфекции высокого уровня и химической стерилизации медицинских инструментов и эндоскопов, не подлежащих стерилизации в условиях высоких температур.

В ы в о д ы

1. «Тефлекс А» зарегистрирован в России в 2008 году как новый кожный антисептик и является водорастворимым полимерным биоцидом, относящимся к 4 классу опасности.

2. «Тефлекс А» высокоэффективен в отношении вирусов, Грам (+) и Грам (–) бактерий, микобактерий, мицелиальных и дрожжеподобных грибов как *in vitro*, так и в экспертных опытах на людях.

3. «Тефлекс А», как новая модификация ПГМГ, проявляет сильные спороцидные свойства против эндоспор бактерий рода *Clostridium* и *Bacillus*, вызывая их редукцию до 10^{-4} – 10^{-6} .

4. Антимикробные и спороцидные свойства позволяют отнести препарат к дезинфектантам высокого уровня с соответствующим применением в медицине

для целей антисептики и для химической стерилизации инструментов.

Список литературы

1. Гембицкий П.А., Воинцева И.И. Полимерный биоцидный препарат ПГМГ. – Запорожье: Полиграф, 1998. – 44 с.

2. Галынкин В.А., Заикина Н.А., Потехта Т.С., Афиногенов Г.Е., Афиногенова А.Г. Дезинфекция и антисептика в промышленности и в медицине. – СПб: Фолиант, 2004. – 16 с.

3. Васильев О.Д., Светлов Д.А., Сдобнова М.Г. «Текс-лекс» – новый полимерный антифунгальный дезинфектант // Проблемы медицинской микологии. – СПб. – 2005. – т. 7. – № 2. – С. 97–98.

© О.С. Калиногорская, А.С. Кветная, 2008

© O.S. Kalinogorskaya, A.S. Kvetnaya, 2008

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ КОКЛЮША У ДЕТЕЙ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ: СОСТОЯНИЕ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И АНТИИНФЕКЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ СЛИЗИСТОЙ РОТОГЛОТКИ

О.С. Калиногорская, А.С. Кветная

Научно-исследовательский институт детских инфекций Росздрава, Россия, Санкт-Петербург

Калиногорская О.С. Особенности течения коклюша у детей на современном этапе: состояние поствакцинального иммунитета и антиинфекционной резистентности слизистой ротоглотки // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С.

Федеральное государственное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Росздрава», 197022, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 9, +7 (812) 234-36-73.

Резюме. Проведен комплексный клинико-anamnestический анализ 1005 случаев коклюша среди детей в возрасте от 1-го мес. до 16-ти лет, находившихся на стационарном лечении и обратившихся в амбулаторно-поликлиническое отделение НИИ детских инфекций (г. Санкт-Петербург) в период 2001–2004г. г. Подтверждена одна из основных особенностей течения коклюша на современном этапе – вовлечение в эпидемический процесс детей, «привитых в анамнезе» (46,7%), преимущественно среди детей старших возрастных групп с отсутствием или резким снижением уровня поствакцинального иммунитета. Научно обоснованы критерии прогноза характера и тяжести течения коклюша у «привитых в анамнезе» и непривитых детей, основанные на комплексной оценке колонизационной активности возбудителя, антиинфекционной резистентности, морфофункционального состояния слизистой ротоглотки и уровня IgA.

Ключевые слова: коклюш, колонизация, иммунитет, иммуноглобулины.

Kalinogorskaya O.S. Modern peculiarities of the pertussis course in children: state of the postvaccination immunity and infectious resistance of oral and pharyngeal mucosa // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P.

Federal State Institution of Pediatric Infections, Federal Agency for Health Care and Social Development, 197022, Saint-Petersburg, Russia, Street prof. Popova, 9. Phone: +7 (812) 234-36-73

Summary. Complex analysis of anamnesis and clinical manifestation in 1005 cases of pertussis in children aged from 1 month to 16 years old, in- and outpatients of Pediatric Infections (Saint-Petersburg) from 2001 to 2004 was performed. One of the main peculiarities of the disease course in present time – development of the disease in children with vaccination in anamnesis (46,7%) mostly of the older age groups with absence or severe decrease of postvaccination immunity level is confirmed. Prognostic criteria of character and severity of the disease in non-vaccinated children and children with vaccination in anamnesis were worked out and scientifically confirmed. The criteria are based on complex evaluation of colonization activity of pathogen, anti-infectious resistance morphologic and functional state of oral and pharyngeal mucosa and IgA level.

Keywords: pertussis, colonization, immunity, immunoglobulins.

Коклюшная инфекция продолжает оставаться актуальной проблемой здравоохранения, поскольку, несмотря на проведение активной иммунизации детского населения в настоящее время, имеют место высокие показатели заболеваемости коклюшем среди детей различных возрастных групп и повсеместное распространение с периодически регистрируемыми эпидемическими подъемами [1, 2].

Затяжной характер течения коклюша и развитие осложнений со стороны бронхо-легочной системы предполагает длительную персистенцию возбудителя в данной экологической нише и развитие микст-инфекции [1, 2]. Характер взаимоотношений коклюшной палочки с сапрофитной и условно-патогенной микрофлорой, персистирующей на слизистой оболочке ротоглотки, не изучен. В этой связи особую значимость в проблеме коклюша на сов-

ременном этапе приобретают исследования, направленные на изучение этиопатогенетических механизмов развития инфекционного процесса при коклюше.

Установленные механизмы действия токсинов *Bordetella pertussis* оказывают влияние на морфофункциональное состояние слизистой ротоглотки и, следовательно, могут косвенно свидетельствовать о степени выраженности патогенных свойств возбудителя и состоянии местного иммунитета [1, 2, 4].

Цель исследования – выявить этиопатогенетические особенности течения коклюша у детей на основе оценки морфофункционального состояния и антиинфекционной резистентности слизистой ротоглотки.

Материал и методы исследования. Проведено комплексное клинико-лабо-

раторное обследование 1005 больных коклюшем детей в возрасте от 1-го месяца до 16-ти лет, находившихся на стационарном лечении в клинике капельных инфекций НИИДИ и обратившихся в амбулаторно-поликлиническое отделение Санкт-Петербургского НИИ детских инфекций в период 2001–2004г. г. Дети, привитые по классической схеме, составили 46,7% (469 детей), дети, привитые с нарушением графика прививок – 17,3% (174 ребенка); непривитые дети – 36,0% (362 ребенка). Обследовано детей первого года жизни 14,9% (150 детей), в возрасте 2-х – 4-х лет – 26,3% (264 ребенка), 5-ти – 7-ми лет – 36,5% (367 детей) и 8-ми – 16-ти лет – 22,3% (224 ребенка). Контрольную группу составили 35 условно здоровых детей, привитых по классической схеме.

Состояние слизистой ротоглотки изучали в препаратах, полученных из проб браш-биоптатов слизистой ротоглотки на основе оценки показателей, характеризующих морфофункциональное состояние слизистой и антиинфекционную резистентность изучаемой экологической ниши и колонизационной активности как возбудителя, так и представителей резидентной и условно-патогенной микрофлоры. С этой целью использовали методы электрокинетической активности ядер эпителиоцитов (ЭЛА), цитобактериоскопии и непрямой иммунофлуоресценции. Степень нарушения микробиоценоза слизистой ротоглотки проводили на основе определения индекса адгезии микроорганизмов, колонизирующих эпителиоциты (ИА – среднее количество микробных клеток на один эпителиоцит), а также индекса инфицирования эпителиоцита (ИИ – процент эпителиоцитов с адгезированными клетками микроорганизмов) [5].

Характер местного иммунитета оценивали по количеству общего иммуноглобулина класса А в гортанно-глоточных смывах на основе реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) с использованием моноспецифических люминесцирующих диагностических антител против IgA человека (НИИ ЭМ им. Гамалеи АМН РФ).

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты проведенного комплексного клинико-анамнестического анализа историй болезни и амбулаторных карт 1005 детей в возрасте от 1-го мес. до 16-ти лет, находившихся на стационарном лечении в клинике капельных инфекций НИИ детских инфекций (130 больных) и обратившихся в амбулаторно-поликлиническое отделение института (875 детей) г. Санкт-Петербурга в период 2001–2004г. г., подтвердили одну из особенностей течения коклюша на современном этапе – вовлечение в эпидемический процесс детей, «привитых в анамнезе» [2, 6]. Причем, в структуре заболевших коклюшем последние оказались на первом месте (46,7%), на втором и третьем – непривитые дети (36,0%) и дети, привитые с нарушением графика прививок (17,3%). Полученные результаты определили стратегию изучения причин регистрации коклюша среди «привитых в

анамнезе» детей и детей, привитых с нарушением графика прививок.

Из 469 обследуемых «привитых» по графику детей, заболевших коклюшем, только 3,4% (16 детей) составили дети в возрасте до 1-го года, 17,1% (80 детей) – дети в возрасте 2-х – 4-х лет и больше половины – 52,2% (245 детей) больных коклюшем приходится на возраст 5-ти – 7-ми лет, 27,3% (128 детей) – дети в возрасте 8-ми – 16-ти лет. Среди непривитых частота регистрации коклюша у детей младших возрастных групп по-прежнему оказалась наибольшей (64,4%, 233 ребенка). Дети до 1-го года составили 34,3% (124 ребенка), в возрасте от 2-х до 4-х лет – 30,1% (109 детей). Регистрация коклюша у детей старших возрастных групп практически была на одном уровне. У 18,8% (68 детей) обследованных коклюш подтверждался в возрасте от 5-ти до 7-ми лет и у 16,8% (61 ребенок) – у детей в возрасте от 8-ми до 16-ти лет.

Анализ показателей напряженности поствакцинального противококлюшного иммунитета как у заболевших коклюшем (257 детей), так и условно здоровых детей (35 человек, контрольная группа), привитых АКДС-вакциной, свидетельствовал о снижении или практически исчезновении противококлюшных антител у детей старших возрастных групп: 5-ти – 7-ми лет и 8-ми – 16-ти лет, соответственно, $p < 0,05$ [1, 2].

Изучение серологической структуры полученных изолятов *B. pertussis* свидетельствовало о доминировании у заболевших коклюшем сероваров «1.2.0.» и «1.0.3.». Из 104 культур *B. pertussis*, выделенных от 104 детей, больных коклюшем, к сероварианту «1.2.3», регистрируемому в допрививочный период, отнесено всего 20,2% изолятов. Тогда как, коклюшные палочки серовариантов «1.2.0.» и «1.0.3.» из числа выделенных культур, соответственно, составили 30,8% и 49,0%.

Анализ клинической картины заболевания у обследованных больных показал, что коклюш у «привитых в анамнезе» детей достоверно чаще протекал в легкой форме, тогда как у непривитых пациентов коклюш чаще регистрировался в тяжелой форме ($p < 0,05$).

Учитывая, что начальная стадия инфекционного процесса при коклюше, как и при других капельных инфекциях, отождествляется с прикреплением возбудителя к эпителиоцитам ротоглотки [3, 4], стратегия изучения особенностей характера этих отношений основывалась на интегральной оценке результатов изучения морфофункционального состояния слизистой, выполненной в рамках разработанного нами алгоритма, который включал комплекс исследований, направленных на изучение качественных и количественных показателей клеточного состава и уровня общего иммуноглобулина класса А (IgA) в секрете слизистой ротоглотки, степени деструкции эпителия ротоглотки, показателей колонизационной резистентности слизистой, оценки микрoэкологических нарушений слизистой и показателей электрокинетической активности ядер эпителиоцитов.

В группах детей с тяжелым течением коклюша, независимо от их иммунного статуса, установлена тесная корреляционная связь с выраженностью деструктивных изменений слизистой ротоглотки ($p < 0,05$, $r = 0,8$). При тяжелых формах коклюша с осложненным течением (в отличие от легких и среднетяжелых форм) в браш-биоптатах слизистой ротоглотки регистрируются нити фибрина и эластические волокна, эпителиальные клетки с разрыхленной, вакуолизированной цитоплазмой и пикнотические ядра или остатки разрушенных эпителиоцитов, о чем свидетельствуют «голые» ядра, обломки цитоплазмы и ядерного материала. На фоне сниженной фагоцитарной активности поли- и мононуклеаров, а также низких показателей, характеризующих колонизационную резистентность слизистой (ИИ), имеет место повышение (в 2–3 раза) колонизационной активности возбудителя. Индексы адгезии возбудителя и УПМ у больных с осложненным течением (при пневмониях и бронхитах) в 2–4 раза были выше, чем у больных с благоприятным течением коклюша ($p < 0,01$, $r = 0,8$). У пациентов с тяжелым течением коклюша, осложненного бронхитом с обструктивным синдромом, в браш-биоптатах слизистой ротоглотки у 40% (14 детей) обнаруживаются эозинофилы, что косвенно свидетельствует об аллергической настроенности организма ребенка ($p < 0,01$). Полученные результаты использовались в работе как прогностические критерии оценки характера течения и прогноза коклюша.

Выявлена зависимость характера развития коклюша от ЭЛА. Уровень электрокинетической активности ядер эпителиоцитов при легком течении коклюша в 5–7 раз превышал этот показатель у детей с затяжным осложненным течением заболевания соответственно $45,3 \pm 2,8\%$ и $35,8 \pm 3,1\%$, против $5,7 \pm 0,8\%$ и $3,6 \pm 1,0\%$, при $p < 0,01$.

Характер ассоциаций и оценка степени инфицированности возбудителем и другими видами патогенных и УП микроорганизмов, персистирующих на слизистой ротоглотки при коклюше, позволил выявить три варианта микробиологических изменений. Для первого варианта характерна ассоциация коклюшной палочки с резидентной микрофлорой (I-ая степень, компенсированная форма), для второго – ассоциация «возбудитель + УПМ + резидентная микрофлора» (II-ая степень, субкомпенсированная форма) и для третьего – персистенция возбудителя в моно- или в ассоциации с УПМ, при полном отсутствии резидентной микрофлоры (III-я степень, декомпенсированная форма).

Легкое течение коклюша, как правило, сочетается с незначительными изменениями структуры микробиоценоза слизистой ротоглотки (I-ая степень микробиологических нарушений $85,6 \pm 6,85$ у привитых, $70 \pm 14,5\%$ у непривитых, $p < 0,01$). При среднетяжелой и тяжелой формах коклюша регистрируются глубокие микробиологические нарушения (II-я и III-я степени) ($63,2 \pm 7,8\%$ привитые, $58,3 \pm 8,2\%$ непривитые, $p < 0,01$). Тяжелое осложненное течение заболе-

вания сопровождается развитием только III-ей степени микробиологических нарушений (декомпенсированная степень) ($80 \pm 12,6\%$ – привитые, $56,5 \pm 10,3\%$ – непривитые, $p < 0,01$, $r = 0,75$).

Содержание местного общего иммуноглобулина класса А в секрете слизистой ротоглотки достоверно снижено (в 2–3 раза) у больных с осложненным течением коклюша, в сравнении с группой больных с благоприятным течением заболевания.

З а к л ю ч е н и е . Таким образом, особенностью современного течения коклюша является все более возрастающая регистрация заболевания у «привитых в анамнезе» детей, наряду с непривитыми. «Привитые в анамнезе» против коклюша дети могут заболеть вследствие недостаточной выработки иммунитета или снижения грунтового иммунитета у «привитых в анамнезе» детей и у детей с нарушенным графиком прививок (дефекты иммунизации – большие интервалы между прививками, незавершенная схема иммунизации). Как у «привитых в анамнезе», так и у непривитых детей коклюш обусловлен преимущественно В. pertussis серотипов «1.2.0.» и «1.0.3.». У «привитых в анамнезе» детей чаще регистрируются легкие и среднетяжелые формы заболевания.

Интегральная оценка результатов изучения морфофункционального состояния слизистой и показателей антиинфекционной резистентности слизистой ротоглотки (местного иммунитета) позволила разработать критерии прогнозирования характера течения инфекционного процесса у детей с коклюшем. Отсутствие деструктивных изменений, высокие показатели колонизационной резистентности ротоглотки, низкий индекс адгезии возбудителя, высокая фагоцитарная активность поли- и мононуклеаров по отношению к возбудителю, высокие показатели ЭЛА, компенсированная степень микробиологических изменений слизистой, высокий уровень IgA в секрете слизистой ротоглотки являются показателями благоприятного течения коклюша. И, наоборот, выраженные деструктивные процессы, регистрация эозинофилов, низкие показатели колонизационной резистентности слизистой, высокий индекс адгезии возбудителя и УПМ, снижение фагоцитарной активности поли- и мононуклеаров, регистрация эозинофилов, снижение уровня ЭЛА ядер эпителиоцитов, развитие глубоких микробиологических нарушений на слизистой, отсутствие или низкий уровень IgA в секрете слизистой ротоглотки – параметры неблагоприятного течения коклюша как у привитых, так и непривитых детей.

Список литературы

1. Тимченко В.Н. Эволюция коклюшной инфекции у детей / В.Н. Тимченко, И.В. Бабаченко, Г.Я. Ценева; СПбГПМА. – СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2005. – 192 с.
2. Ценева Г.Я. и др. Коклюш у привитых детей (клиническая и лабораторная диагностика): Метод. рек. – СПб., 2003. – 20с.
3. Кветная А.С., Курбатова Г.П., Волкова М.О. и др. Стратегия взаимоотношений «паразит-хозяин» в инфекции

ях бактериальной природы у детей // Сб. научн. трудов НИИ ДИ. – СПб., 1997. С. 12–20.

4. Locht C., Antoine R., Jacob F. Dubuisson Bordetella pertussis, molecular pathogenesis under multiple aspects // Curr. Opinion in Microbiology. – 2000. – Vol. 4. – P. 82–89.

5. Быценко Д.С. Адаптационные механизмы формирования бактерионосительства токсигенных *Corinebacterium*

diphtheriae: Автореферат дис. ... канд. мед. наук. – СПб, 2000. – 14 с.

6. Guris D. et al. Changing epidemiology of pertussis in the United States: increasing reported incidence among adolescents and adults, 1990–1996 // Clin. Infect. Dis. – 1999. – Vol. 28. – N. 6. – P. 1230–1237.

© Г.А. Афанасьева, Н.П. Чеснокова, М.Г. Романцов, 2008

© G.A. Afanasieva, N.P. Chesnokova, M.G. Romantsov, 2008

ЦИТОФЛАВИН КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ ПРЕПАРАТ ДЕПОТЕНЦИРОВАНИЯ ЛЕТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТОКСИНОВ *Y. PESTIS*

Г.А. Афанасьева, Н.П. Чеснокова, М.Г. Романцов

Саратовский государственный медицинский университет» Росздрава, г. Саратов, Россия

Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П., Романцов М.Г. Цитофлавин как эффективный препарат депотенцирования летального воздействия токсинов *Y. Pestis* // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 105–108.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава), Россия, 410710, г. Саратов, ул. Казачья, 112, тел.: 8-845-251-12-87.

Резюме. Одним из эффективных способов коррекции метаболических нарушений и депотенцирования летального действия эндотоксина и «мышинного» токсина *Y. pestis* является использование цитофлавина в комплексе с унитиолом, димексидом и селенитом натрия.

Ключевые слова: токсины *Y. Pestis*, Цитофлавин.

Afanasieva G. A., Chesnokova N.P., Romantsov M.G. Cytoflavin as an effective medicine for depotentiation of *Y. Pestis* toxin lethal influence // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 105–108.

State Educational Establishment of High Professional Training «Saratov State Medical University of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», Russia, 410710, Saratov, Kazathy str., 112, tel.: 8-845-251-12-87.

S u m m a r y : Complex medical drugs – cytoflavin, unitiol, dimexid, natrium selenite – can be used for metabolic disturbances correction and depotentiation of lethal effects of *Y. pestis* toxins.

K e y w o r d s : *Y. pestis* toxines, Cytoflavine.

Результаты экспериментов на моделях чумной интоксикации, достигаемых внутрибрюшинным введением животным различной видовой принадлежности (белые мыши и крысы) возрастающих доз липополисахарида (ЛПС), «мышинного» токсина *Yersinia pestis*, а также в условиях их сочетанного использования, убедительно свидетельствуют о выраженной активации процессов липопероксидации (ЛПО), недостаточности ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы (АОС) клеток крови и тканей различных органов [1–3].

Этот факт позволяет предположить, что интенсификация процессов ЛПО и снижение активности антиоксидантной защиты клеток являются одним из молекулярно-клеточных механизмов реализации цитопатогенных эффектов токсических и ферментных факторов патогенности чумного микроба особенно в период выраженных клинических проявлений интоксикации, осложненный развитием гипоксического синдрома.

В связи с вышесказанным становится очевидной возможность использования в целях депотенцирования патогенных эффектов эндотоксина и «мышинно-

го» токсина *Y. pestis* фармакологических препаратов со свойствами антиоксидантов, антигипоксантов и мембранопротекторов.

Как свидетельствуют данные литературы, в последние годы при лечении ишемической болезни сердца и выраженных расстройств церебрального кровотока нашли успешное применение цитофлавин, реамберин (НТФФ «Полисан», Санкт-Петербург) и ряд других препаратов с антигипоксантами эффектами [4, 5, 8].

До настоящего момента в изученной нами литературе мы не встретили данных об эффективных способах депотенцирования цитопатогенного и летального эффектов токсинов *Y. pestis* с использованием указанных препаратов.

В связи с этим целью настоящего исследования явилась оценка влияния фармакологических комплексов, включающих цитофлавин и реамберин, а также другие антиоксиданты, антигипоксанты, мембранопротекторы, на токсический и летальный эффекты ЛПС и «мышинного» токсина *Y. pestis*.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования

были проведены на беспородных белых мышах обоего пола на модели чумной интоксикации, достигаемой внутрибрюшинным сочетанным введением ЛПС и «мышинного» токсина *Y. pestis* в дозах, эквивалентных ЛД₅₀. Токсины приготовлены во ФГУЗ «Российский НИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора: ЛПС экстрагирован методом Вестфал-Людеритца из штамма *Y. pestis* 358/12 и осажден смесью спирта и ацетона, «мышинный» токсин – фракция II – выделен из ацетонированных клеток вакцинного штамма *Y. pestis* EV по методу Бекера.

Определение и расчет летальной активности токсинов проводились по методу Литчфилда-Уилкоксона (1949) в модификации Ю.И. Иванова, О.Н. Погорелюк (1990). Исследование продолжительности жизни экспериментальных животных проводилось в течение 24 часов с момента их введения.

Детоксирующий эффект комплексов фармакологических препаратов оценивали на стадии выраженных клинических проявлений интоксикации – спустя 4 часа после введения токсинов по уровню молекул средней массы (МСМ) (В.И. Гудим, Н.И. Габриэлян, 1985) в сыворотке крови экспериментальных животных.

В работе проведена сравнительная оценка эффектов различных комплексов препаратов, включающих реамберин и цитофлавин, которые вводились животным внутрибрюшинно в средних терапевтических дозах спустя 30 минут после инъекции токсинов. Первый комплекс включал реамберин, унитиол, диметилсульфоксид, селенит натрия. Во втором комплексе вместо реамберина использовался цитофлавин. Третий комплекс препаратов для фармакологической коррекции содержал эмоксипин, контрикал, клексан и гемодез.

Результаты исследования и их обсуждение. Как оказалось, в серии экспериментов по изучению возможностей фармакологической коррекции летальной активности токсинов *Y. pestis*, где использовался комплекс, включающий реамберин, унитиол, димексид и селенит натрия, не происходило достоверного снижения летальной активности ЛПС и «мышинного» токсина при сочетанном их введении в дозах, эквивалентных ЛД₅₀ (рис.).

Касаясь возможности реализации биологических эффектов использованных фармакологических препаратов и их отсутствия при чумной интоксикации, следует отметить, что реамберин относится к сукцинатсодержащим антигипоксантам субстратного типа и представляет собой сбалансированный полиионный раствор с добавлением натрий-N-метилглюкаминной соли янтарной кислоты. Помимо антигипоксантных эффектов реамберин оказывает дезинтоксикационное действие за счет способности умеренного увеличивать диурез и активирует ферментное звено АОС. Используемый нами в первом комплексе препаратов унитиол (2,3-димеркаптопропансульфонат натрия) представляет собой дезинтоксикационное средство, сульфгидрильные группы которого взаимо-

действуют с токсинами с образованием нетоксичных водорастворимых соединений. В то же время применение димексид (диметилсульфоксида) обусловлено его способностью связывать и нейтрализовать свободные радикалы, в частности гидроксильные, облегчать проникновение лекарственных средств через биологические барьеры. Селенит натрия был включен в комплекс препаратов в связи с его антиоксидантными эффектами, обусловленными его способностью активировать глутатионпероксидазу, в состав которой входит атом селена [6–8].

Таким образом, использование в целях депотенцирования патогенных эффектов эндотоксина и «мышинного» токсина *Y. pestis* реамберина – фармакологического препарата со свойствами антигипоксанта субстратного действия – в сочетании с другими антигипоксантами, антиоксидантами и мембранопротекторами свойствами оказалось недостаточным для снижения летальной активности указанных токсинов.

Использование вместо реамберина во втором варианте экспериментов в аналогичном комплексе препаратов цитофлавина, обладающего свойствами антигипоксанта субстратного и регуляторного типа и представляющего собой комплекс янтарной кислоты, рибоксина, рибофлавина и никотинамида, позволило обнаружить увеличение продолжительности жизни и выживаемости белых мышей, то есть достоверное снижение летальной активности токсинов и увеличение их ЛД₅₀ ($p < 0,001$).

В связи с полученными данными очевидно, что положительный результат воздействия на летальную активность ЛПС и «мышинного» токсина второго комплекса препаратов в основном обусловлен действием цитофлавина. Касаясь биологических эффектов его компонентов, следует отметить, что рибоксин является агонистом пуринергических рецепторов, возбуждение которых приводит к гиперполяризации биомембран за счет усиления эйфузии ионов калия из клетки. Активация данных рецепторов сопровождается, кроме того, активацией гликолиза за счет использования метаболитов аденозина в основе которой лежит образование глюкозо-6-фосфата (активация гексокиназной системы), фруктозо-6-фосфата (активация глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы), усиление реакции карбоксилирования пировиноградной кислоты. Кроме того аденозин, подвергаясь ферментативным превращениям, участвует в образовании оксида азота, что сопровождается системной вазодилатацией и улучшением доставки кислорода тканям.

Другой компонент цитофлавина – рибофлавин – обеспечивает сохранение активности ферментного звена антиоксидантной системы, выступая в роли флавинового кофермента глутатионредуктазы, поддерживающей пул восстановленного глутатиона. Рибофлавин входит в состав дыхательных ферментов митохондрий (глутарил-КоА-дегидрогеназы, саркозиндегидрогеназы, НАДН-дегидрогеназы, электронпереносящих флавопротеинов и др.), обеспечивающих регенерацию НАД. Флавиновые ферменты участ-

вуют в реализации активности сукцинатдегидрогеназы и потреблении сукцината через метаболические шунты. Таким образом, рибофлавин обладает и антиоксидантным (за счет поддержания системы глутатиона) и антигипоксантичным (за счет флавиновых ферментов) эффектами. Между тем, никотинамид – третий компонент цитофлавина – является прекурсором коферментов дегидрогеназ (НАД и НАДФ), то есть способен опосредовано через нормализацию соотношения НАДН/НАД регулировать процессы цикла трикарбоновых кислот и окислительного фосфорилирования. Янтарная кислота, выступая в роли субстратного антигипоксанта цитофлавина, ускоряет реакции цикла трикарбоновых кислот (сукцинат-фумарат-малат), снижает концентрацию молочной кислоты, следовательно увеличивает образование энергии, необходимой для синтеза АТФ и ГАМК. В условиях гипоксии сукцинат может поглощаться через альтернативный путь сукцинатоксидазной системы с последующим потреблением янтарной кислоты в дыхательной цепи митохондрий. Янтарная кислота увеличивает потребление кислорода тканями и улучшает тканевое дыхание за счет усиления транспорта электронов в митохондриях, воссоздания проточного градиента на их мембранах и усиливает диссоциацию оксигемоглобина, то есть отдачу кислорода тканям [4, 5, 8].

Таким образом, следует отметить, что второй комплекс препаратов, отличающийся от первого лишь заменой реамберина на цитофлавин при наличии других идентичных компонентов – унитиола, димексида и селенита натрия – является достаточно эффективным в механизмах депотенцирования токсического и летального эффектов токсинов чумного микроба.

Результаты последующих серий экспериментов, где в целях депотенцирования летального эффекта ЛПС и «мышинного» токсина чумного микроба было использовано сочетанное введение эмоксипина, контрикала, клексана и гемодеза, также позволили обнаружить снижение уровня МСМ в сыворотке крови ($p < 0,001$), увеличение продолжительности жизни и выживаемости белых мышей, то есть достоверное снижение летальной активности токсинов и увеличение их ЛД₅₀ ($p < 0,001$) (рис.).

Полученный в данной модификации экспериментов положительный результат медикаментозной коррекции, обусловлен способностью использованных препаратов обеспечивать стабилизацию биологических мембран, нормализацию коагуляционного потенциала крови, микрогемодинамики.

Как известно, эмоксипин является антиоксидантом класса 3-оксипиридина, способным активно взаимодействовать с перекисными радикалами липидов и гидроксильными радикалами пептидов. Кроме того, эмоксипин снижает агрегацию тромбоцитов и нейтрофилов, уменьшает полимеризацию фибрина, тормозит переход фибрин-мономера в фибрин-полимер, ингибирует фосфодиэстеразу циклических нуклеотидов, увеличивает содержание цАМФ и цГМФ в клетке [4, 5].

Использование контрикала определялось его способностями регулировать взаимодействие между различными факторами свертывания крови и фибринолиза. Так, известно, что контрикал (апротинин) относится к группе поливалентных ингибиторов фибринолиза, подавляющих активность протеиназ плазмы крови (плазмина, кининогеназы, трипсина, химотрипсина), а также клеток крови и тканей.

В качестве детоксицирующего средства в третьем комплексе препаратов использовался гемодез – водно-солевой раствор, содержащий низкомолекулярный поливинилпирролидон, повышающий коллоидно-осмотическое давление крови, связывающий в кровеносном русле и усиливающий выведение из организма токсических веществ. Кроме того, гемодез ликвидирует явления стаза в капиллярах, за счет чего улучшает микроциркуляцию и доставку кислорода тканям.

Использование клексана (эноксапарина натрия) – препарата низкомолекулярного гепарина (4 500 Д), полученного из стандартного гепарина методом деполимеризации, определялось его способностью снижать активность Ха-фактора (тромбокиназы).

Тем не менее, сравнивая результаты депонцирования летальной активности токсинов *Y. pestis* третьего и второго комплекса препаратов, следует отметить более высокий эффект воздействия цитофлавина в сочетании с унитиолом, димексидом и селенитом натрия (рис.).

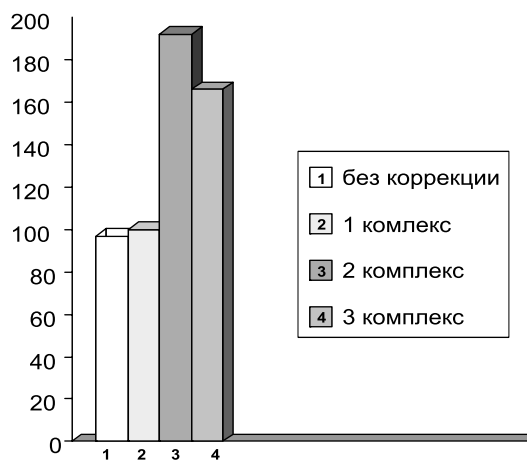


Рис. ЛД₅₀ липополисахарида *Y. pestis* (мкг/20 г веса белой мыши)

Выводы. Результаты проведенных нами исследований позволяют заключить, что летальный эффект сочетанного воздействия ЛПС и «мышинного» токсина *Y. pestis* в определенной степени обратим на фоне медикаментозной коррекции, включающей использование антиоксидантов и мембранопротекторов.

Высокоэффективным препаратом, обеспечивающим снижение летальной активности указанных токсинов является цитофлавин – антигипоксанти субстратного и регуляторного действия, включающий

янтарную кислоту, рибоксин, рибофлавин и никотинамид.

Положительное корректирующее воздействие на летальную активность токсинов чумного микроба оказывает также эмоксипин – синтетический антирадикальный препарат, эффекты которого усиливаются контрикалом, клексаном и гемодезом.

Список литературы

1. Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы нарушений реологических свойств крови под влиянием «мышинного» токсина *Y. pestis* // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2007, 3. – № 4. – С. 43–48.
2. Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П. Значение активации процессов липопероксидации в развитии цитопатогенных эффектов фракции ФП («мышинного» токсина) // Ж. «Вестник Саратовского гос. агроуниверситета им. Н.И. Вавилова». – 2008. – № 2. – С. 18–19.
3. Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П., Будник И.А. О патогенетической значимости активации процессов липопероксидации в механизмах нарушений реологических свойств крови при бактериальном эндотоксикозе // Ж. «Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки». – 2008. – № 1. – С. 3–8.
4. Бизенкова М.Н., Чеснокова Н.П., Романцов М.Г. Метаболические эффекты цитофлавина при острой экспериментальной гипоксической гипоксии // Ж. Успехи современного естествознания. – 2007. – № 9. – С. 45–48.
5. Коваленко А.Л., Романцов М.Г., Бизенкова М.Н. и др. Патогенетическое обоснование и фармакологическая эффективность применения цитофлавина при острой ишемии мозга // Вестник Санкт-Петербургской гос. мед. академии им. И.И. Мечникова. – 2006. – № 7. – С. 13–18.
6. Оковитый С.В. Клиническая фармакология антиоксидантов // «ФАРМиндекс-Практик». – 2003, вып. 5. – С. 85–111.
7. Оковитый С.В. Клиническая фармакология антиоксидантов // «ФАРМиндекс-Практик». – 2005, вып. 7. – С. 48–63.
8. Чеснокова Н.П., Ледванов М.Ю. Активация свободно-радикального окисления – эфферентное звено типовых патологических процессов – Саратов, 2006.

© А.В. Гордеев, О.Г. Савина, В.А. Шаркова, 2008

© A.V. Gordeets, O.G. Savina, V.A. Sharkova, 2008

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННОГО МОНОНУКЛЕОЗА У ДЕТЕЙ

А.В. Гордеев, О.Г. Савина, В.А. Шаркова

Владивостокский государственный медицинский университет Росздрава, Владивосток, Россия

Гордеев А.В., Савина О.Г., Шаркова В.А. Клинико-иммунологический мониторинг терапии инфекционного мононуклеоза у детей // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 108–111.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Владивостокский государственный медицинский университет Росздрава», 620002 г. Владивосток, пр. Острякова, 2. тел/факс (4232) 45-17-06. E-mail: vgmu@mail.primorie.ru

Резюме. Нами изучена эффективность применения циклоферона у больных с ИМ различной этиологии. Циклоферон был включен в комплекс общепринятой терапии 48 больных детей (с ВЭБ – 25 детей, ЦМВ – 13 и с микст-инфекцией – 10). Дети получали таблетированную форму циклоферона из расчета: 6–10 мг/кг массы тела один раз в сутки. Препарат принимался по схеме 1–2–4–6–8–11–14–17–20–23-й день. В группу сравнения вошло 64 пациента (ВЭБ – 30 детей, ЦМВ – 16 и с микст-инфекцией – 18), получавшие общепринятую терапию без применения циклоферона.

Ключевые слова: инфекционный мононуклеоз, Эпштейна-Барр вирус, цитомегаловирус, дети, циклоферон.

Gordeets A.V. Clinical immunology monitoring of therapy Infectious mononucleosis in children // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 108–111.

Vladivostok State Medical University, 690014, pr. Ostryakova, 2. Tel. 8 (4232) 45-17-06. E-mail: vgmu@mail.primorie.ru

Summary: We study efficiency of application of cycloferon at patients with infectious mononucleosis to different etiology. Cycloferon was plugged in the complex of the generally accepted therapy 48 sick children (with VEB are 25 children, CMV – 13 and with mixt-infections – 10). Children got the tablet form of cycloferon from a calculation 6–10 mg/kg mass physical body time per days. Preparation was adopted on a chart: 1–2–4–6–8–11–14–17–20–23-th day. 64 patients (VEB are 30 children, CMV – 16 and with mixt-infections – 18), getting the generally accepted therapy without application of cycloferon entered in the group of comparison.

Keywords: infectious mononucleosis, virus Epstein-Barr, cytomegalovirus, children, cycloferon.

Инфекционный мононуклеоз (ИМ) – антропонозная инфекция, возбудителем которой являются вирусы семейства *Herpesviridae* преимущественно Эпштейна-Барр вирус (ВЭБ). Следует отметить, что у части детей первых 4-х лет жизни инфицирование ВЭБ не сопровождается клиническими проявлениями и протекает бессимптомно или в форме респираторной вирусной инфекции. При первом контакте с ВЭБ в более старшем возрасте почти в по-

ловине случаев развиваются клинические проявления типичного ИМ [4, 6]. Для ИМ характерны вариабельность и многообразие клинических проявлений, симптоматика которых может напоминать гепатит, нефрит, дифтерию, ангину, лейкоз, лимфаденит, что создает определенные трудности в своевременной и правильной диагностике, а также при дифференциально-диагностическом разграничении его от заболеваний, сопровождающихся мононуклеозоподобным

синдромом. Ошибки в диагностике не догоспитальном этапе составляют от 40 до 90% случаев, особенно у детей раннего возраста [4, 6].

В последние годы в нашей стране многими учеными отмечен рост заболеваемости ИМ, что обусловлено, как истинным его увеличением, так и повышением специфичности и информативности современных методов диагностики, которые позволили выявить, что вирус Эпштейна-Барр является не единственным возбудителем ИМ [1–3]. Согласно Международной классификации болезней (МКБ-10) различают Эпштейна-Барр вирусный мононуклеоз, цитомегаловирусный мононуклеоз (ЦМВ). Кроме того, имеется в классификации формулировка – ИМ неуточненный [2, 5].

Вопрос о иммунопатогенезе до сих пор остается спорным. Одни авторы считают, что основную роль в формировании иммунитета при ИМ принадлежит клеточным механизмам, состояние которых определяет как исход первичного инфицирования, так и частоту, направленность рецидивов заболевания [1]. В то время как исследования других авторов показывают, что иммунные нарушения при ИМ носят комплексный характер, они касаются, как клеточного, так и гуморального звена иммунитета, что отражает суть ИМ как болезнь иммунной системы [4].

Целью работы явился мониторинг клинико-иммунологических параметров больных ИМ различной этиологии в процессе комплексной терапии.

Материалы и методы исследования. Проведено комплексное клинико-иммунологическое обследование 173 больных детей (в возрасте от полутора лет до 12 лет) с различными клиническими формами ИМ, находящиеся на лечении в детском инфекционном отделении № 2 ГКБ № 2 г. Владивостока в период 2004–2006 гг. Лабораторные методы включали клинический анализ крови (с подсчетом атипичных мононуклеаров), биохимический анализ крови. Этиологическая диагностика заболевания подтверждалась методом иммуноферментного анализа с определением IgM и IgG к ВЭБ и ЦМВ, а также методом полимеразной цепной реакции в сыворотке крови. Интерлейкины (ИЛ-2, -6, -8) определялись с помощью тест-систем ООО «Цитокин» (СПб.). Группу контроля составили 12 практически здоровых детей сопоставимые по полу и возрасту с исследуемой группой.

Результаты исследования и их обсуждение. В результате проведенного исследования получены следующие данные: у 113 больных был диагностирован Эпштейна-Барр вирусный мононуклеоз (65,3%), у 32 (18,5%) – цитомегаловирусный мононуклеоз. Смешанный герпетический мононуклеоз был выставлен 28 (16,2%) больным (ВЭБ+ЦМВ).

Клинические проявления у всех больных ВЭБ мононуклеозом были типичны: гипертермия, общая слабость, снижение аппетита, головная боль. У 109 (96,5%) обследованных детей отмечалась фебрильная лихорадка до 39,50С и выше, которая отличалась монотонностью, отсутствием эффекта от приема жаро-

понижающих. Затрудненное носовое дыхание встречалось в 88,5 ± 3,0% случаях, проявлялось «храпящее» дыхание во сне – у 59 (52,2%) детей, лицо было одутловатым с пастозностью век у 52 обследованных детей (46,0%). Изменение в ротоглотке сопровождалось явлениями тонзиллита. Чаще налеты характеризовались обильными гнойными наложениями на миндалины – 68,1 ± 5,3%. Увеличение лимфоузлов преимущественно передне- и заднешейных в 100,0 ± 0,0% случаев, тонзиллярных – 87,6 ± 3,1%. У половины обследуемых детей встречается лимфопролиферативный синдром с вовлечением 3–4 групп лимфатических узлов. Постоянным симптомом ИМ являлась гепатомегалия, которая регистрировалась в 95,6 ± 2,0% случаях, спленомегалия место у 49 (43,4%) обследованных детей. Экзантема встречалась в 47,8 ± 5,8% случаях, у большинства высыпания появлялись на 3–5 день заболевания, характеризовались ярко-розовыми пятнисто-папулезными элементами, располагались на туловище и конечностях, сопровождалась кожным зудом. В гемограмме в 54,9 ± 5,3% случаев выявлялся лейкоцитоз до 14,7 ± 6,0 × 10⁹/л, лейкопения у 4,4 ± 3,5% больных, лимфоцитоз – 100,0 ± 0,0%, атипичные мононуклеары – в 85,8 ± 3,0% случаев и максимально достигали 53%. Цитомегаловирусный мононуклеоз у детей начинался остро с умеренных симптомов интоксикации. Повышение температуры регистрировалось в 96,4 ± 1,1% случаев, но свыше 38,00С лишь у 15 (46,9%) детей. Изменения со стороны ротоглотки у всех обследованных детей характеризовались яркой, разлитой гиперемией, гипертрофией миндалин I-II степени и отсутствием налетов на миндалинах. В 62,5 ± 5,3% случаев отмечен афтозный стоматит на слизистой полости рта. У 12 обследованных детей (37,5%) наблюдалась аллергическая сыпь пятнисто-папулезного характера на теле. В данной группе детей наблюдалось преимущественно увеличение шейных и паховых лимфоузлов в 87,0 ± 3,8% и 93,7 ± 1,5% случаях соответственно. Шейные лимфоузлы достигали 1,3 ± 0,6 см в диаметре, в 83,7 ± 3,2% случаев пальпировались «пакетами». Гепатомегалия определялась на 2,4 ± 0,9 см выше возрастной нормы и регистрировалась у 31 (96,8%) обследованных пациентов при нормальных показателях биохимического анализа крови. Спленомегалия была выявлена лишь у 11 (34,3%) детей, достигая 1,2 ± 0,3 см. При пальпации печени и селезенки болезненности не возникало. В клиническом анализе крови регистрировался лейкоцитоз 16,1 ± 3,6 г/л в 85,2 ± 7,0% случаев. Количество мононуклеаров во всех возрастных группах варьировало от 5% до 20%, у 4 больных достигая 35–40%. Клинические симптомы ИМ смешанной этиологии были представлены лихорадкой, максимально достигающей 38,50С с одноволновым течением. В 42,8 ± 6,7% случаев были выявлены налеты на миндалинах в виде гнойных фолликулов. В 67,8 ± 4,9% случаев при сочетанной инфекции наблюдался афтозный стоматит на слизистой ротовой полости, дужках миндалин. Аллергическая сыпь регистрировалась лишь в

28,6 ± 7,9% случаев. При сочетанной форме ИМ увеличение тонзиллярных лимфоузлов достигало 2,1 ± 0,9 см (100,0%), шейных – до 1,7 ± 0,7 см – 50,0 ± 4,8% случаев. Гепатомегалия регистрировалась в 35,7 ± 5,3% случаев, степень увеличения была на 2,2 ± 0,6 см при среднетяжелых формах. Размеры селезенки достигали 1,4 ± 0,8 см, и регистрировались у 19 (67,8%) обследованных детей. Изменения со стороны периферической крови в острый период наблюдались у всех больных и характеризовались лейкоцитозом (11,8 ± 3,0 × 10⁹/л), появлением атипичных мононуклеаров от 5 до 16%, от 28 до 40% – у 6 детей. Таким образом, можно предположить, что различия, выявленные при анализе клинических симптомов, связаны с патогенетическими особенностями различных вирусов герпеса – возбудителей ИМ.

При исследовании цитокинового профиля в острый период у больных цитомегаловирусным мононуклеозом и при сочетанной форме уровень сывороточного ИЛ-2 находился в пределах показателей контрольной группы (31,7 ± 4,9 пг/мл и 30,4 ± 3,6 пг/мл соответственно, против контроля 33,0 ± 2,0 пг/мл, $p > 0,05$). У детей больных ИМ, вызванным ВЭБ-инфекцией содержание данного цитокина в сыворотке крови было ниже нормы и составлял 28,7 ± 5,2 пг/мл, против 33,0 ± 2,0 пг/мл. Так же у больных ИМ ВЭБ этиологии в сыворотке крови было отмечено повышение содержание ИЛ-6 в 13 раз ($p < 0,001$). При цитомегаловирусном и сочетанном мононуклеозе уровень сывороточного ИЛ-6 (64,1 ± 13,8 пг/мл и 55,8 ± 10,2 пг/мл соответственно, против контрольной группы 8,4 ± 0,7 пг/мл, $p < 0,001$). Проведенный нами анализ уровня сывороточного ИЛ-8 у детей больных ИМ, в острый период показал его рост, не зависимо от возбудителя. Так показатели данного цитокина при ИМ, вызванным ВЭБ-инфекцией, более чем в 8 раз превышал контрольные величины (163,9 ± 25,1 пг/мл против 19,0 ± 0,8 пг/мл, $p < 0,001$). При ЦМВ мононуклеозе ИЛ-8 нарастает, превышая уровень контрольных показателей в 2,8 раза, достигая 52,6 ± 3,8 пг/мл. А при сочетанной форме ИМ в 4,6 раз был выше по сравнению с контрольной группой (88,9 ± 9,7 пг/мл, $p < 0,001$).

Важным направлением в терапии ИМ, является коррекция нарушений иммунного статуса. Этому способствует применение иммуномодуляторов, в том числе индукторов эндогенных интерферонов.

Циклоферон был включен в комплекс общепринятой патогенетической терапии 48 больных детей (с ВЭБ – 25 детей, ЦМВ – 13 и с микст-инфекцией – 10). Дети получали таблетированную форму циклоферона из расчета 6–10 мг/кг массы тела один раз в сутки. Препарат принимался по схеме: 1–2–4–6–8–11–14–17–20–23-й день. В группу сравнения вошло 64 пациента (ВЭБ – 30 детей, ЦМВ – 16 и с микст-инфекцией – 18), получавшие общепринятую терапию без применения циклоферона. Эффективность применения циклоферона оценивалась по регрессу клинических симптомов, таких как продолжительность лихорадки,

ангины, лимфаденопатии, гепатоспленомегалии, а так же по динамике иммунологических показателей.

Исследования показали, что на фоне применения циклоферона в комплексном лечении инфекционного мононуклеоза, вызванного ВЭБ-инфекцией, наибольший клинический эффект замечен при исследовании динамики наиболее распространенных симптомов. Так, в исследуемой группе детей температура нормализовалась на 5,2 ± 1,3 день (в группе сравнения на 9,1 ± 1,7 день), гнойные налеты исчезли на 4,8 ± 0,8 день (в группе сравнения на 7,2 ± 1,3 день), нарушение носового дыхания отмечено на 5,3 ± 0,9 день. Так же отмечалась положительная динамика при спленомегалии, тенденция к уменьшению размеров органа наблюдалась на 4,2 ± 0,8 день в случае среднетяжелого течения. При включении в лечение циклоферона, уровень ИЛ-2 увеличивался до 39,4 ± 5,1 пг/мл, тогда как в группе больных с традиционной терапией, зафиксирована меньшая интенсивность роста. У пациентов первой группы при терапии циклофероном отмечено существенное снижение уровня ИЛ-6 и ИЛ-8 (в 12,1 раза и в 4,9 раза соответственно). Тогда, как у больных, получавших традиционную терапию, содержание ИЛ-8 снижалась менее значительно: в 3,9 раза.

При применении циклоферона в комплексном лечении цитомегаловирусного мононуклеоза динамика улучшения состояния была несколько быстрее, чем в группе сравнения. Достоверно укорачивалась продолжительность лихорадки – 4,2 ± 0,4 дня, афты эпителизировались на 3,7 ± 0,5 день, размеры селезенки нормализовались на 3,4 ± 0,5. Динамика обратного развития таких симптомов как лимфаденопатия наблюдалась на 3,8 ± 0,4 сутки, печени – 4,7 ± 0,7 день. На фоне лечения циклофероном уровень ИЛ-2 увеличивался до 67,3 ± 14,1 пг/мл, тогда как в группе больных, получавших только традиционную терапию, зафиксирована меньшая концентрация (39,7 ± 4,6 пг/мл). Содержание ИЛ-6 у больных, получавших традиционную терапию, снижалось до 42,3 ± 3,0 пг/мл, что превышало уровень у здоровых детей, в то время как у детей получавших циклоферонотерапию уровень цитокина падал значительно интенсивней и составил 34,3 ± 2,6 пг/мл. Зафиксировано статистически достоверное снижение сывороточного хеомоксина (ИЛ-8) в обеих группах сравнения. Однако его уровень у больных, получавших циклоферон, был значительно ниже, чем у больных на фоне стандартной терапии и практически равен контролю 18,2 ± 1,6 пг/мл.

Наибольший клинический эффект замечен при исследовании динамики общепринятых синдромов на фоне применения циклоферона в комплексном лечении микст-инфекции. Так, лихорадка в исследуемой группе детей регистрировалась в среднем 4,0 ± 1,5 дней при среднетяжелых формах, ангина 4,2 ± 0,9 дней. Длительность лечения афтозного стоматита составляла 3,3 ± 0,5 дня, в то время как в контрольной группе 5,3 ± 0,9 дня. При

включении в лечение в лечение больных микст-формами – циклоферона, уровень ИЛ-2 увеличивался до $59,2 \pm 10,1$ пг/мл, тогда как в группе больных, с традиционной терапией, зафиксированы более низкие концентрации. Сывороточный ИЛ-6 достоверно снижался в обеих исследуемых группах по отношению к контрольным показателям: в 2,6 раза в группе получавшей циклоферон и в 2,4 раза при традиционной терапии. Между обеими группами достоверных различий выявлено не было. Содержание ИЛ-8 у пролеченных больных снизилось незначительно ($77,3 \pm 3,5$ пг/мл). В то время как в группе детей получавших стандартную терапию содержание данного интерлейкина оставалось без изменения ($88,8 \pm 5,1$ пг/мл).

В ы в о д ы

Клиника ИМ ЦМВ отличается от классического варианта, вызванного ВЭБ, отсутствием воспалительных явлений на слизистой ротоглотки, частым выявлением афтозного стоматита, а сочетанные формы характеризуются наличием клинических симптомов ВЭБ и ЦМВ инфекции. Нашими исследованиями определены статистически достоверные различия в секрети ИЛ-6 и ИЛ-8 у больных ИМ разной этиологии (ВЭБ и ЦМВ), что позволяет проводить косвенную диагностику данных заболеваний. Более выраженные изменения зафиксированы при ВЭБ ИМ, однако направление динамики изучаемых цитокинов не зависело от этиологического фактора. Включение циклоферона в терапию ИМ различной этиологии, способствует более выраженной положительной динамике

клинических симптомов. Наблюдается нормализация иммунологических показателей: повышению содержания сывороточного ИЛ-2, снижение уровня ИЛ-6 и ИЛ-8 в сыровотке крови. Это положительно сказывается на течении болезни и дает возможность на благоприятный исход заболевания не зависимо от этиологии возбудителя.

Список литература

1. Черноусов А.Д., Егорова Н.Ю., Гусева Л.Н. и др. Инфекционный мононуклеоз, ассоциированный с вирусами IV, V, VI типов // Детские инфекции. – 2005. – № 3. – С. 6–11.
2. Гусева Л.Н., Егорова Н.Ю., Бойцов В.П., Учайкин В.Ф. Инфекционный мононуклеоз как полиэтиологическое заболевание // Дальневосточный журн. Инфекц. патологии. – 2005. – № 7. – С. 41.
3. Гордеев А.В., Савина О.Г., Ерохина Л.Г., Яценя О.В. Инфекционный мононуклеоз у детей Приморья // Дальневосточный журнал инфекционной патологии – 2005. – № 7. – С. 66.
4. Гордеев А.В., Савина О.Г., Шаркова В.А., Ремезкова Р.В. Клинико-иммунологические особенности ВЭБ-инфекции и ее сочетанных вариантов у детей // Актуальные вопросы инфекционной патологии: Материалы международного евро-азиатского конгресса по инфекционным болезням – (Витебск, 5–6 июня 2008 г.). – Витебск, 2008. – С. 135.
5. Краснова Е.И., Васюнин А.В., Никифорова Н.А., Поздняков А.С. Ранняя диагностика инфекционного мононуклеоза у детей // Рос. педиатрич. журн. – 2004. – № 5. – С. 57–59.
6. Wakiguchi H., Maeda A., Dohno S., Sato T. Infectious mononucleosis // Nippon Rinsho: Japan. J. Clinic. Med. – 2006. – Vol. 64, № 3 – P. 625–629.

МИКРОБИОТА ЗДОРОВОГО И БОЛЬНОГО ЧЕЛОВЕКА. ИДЕИ МЕЧНИКОВА И ЭРЛИХА В КЛИНИКЕ И ТЕРАПИИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ MICROBIOTA OF HEALTHY AND SICK MAN. IDEAS OF MECHNIKOV AND EHRLICH IN CLINIC AND THERAPY OF VARIOUS DISEASES

© А.К. Мартусевич, Ю.В. Зимин, 2008
© A.K. Martusevich, Yu. V. Zimin, 2008

РОЛЬ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В СИСТЕМЕ «МИКРООРГАНИЗМ – ЧЕЛОВЕК»

А.К. Мартусевич, Ю.В. Зимин

Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии, Нижний Новгород, Россия

Мартусевич А.К., Зимин Ю.В. Роль физико-химических процессов в системе «микроорганизм – человек» // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 112–115.

Федеральное государственное учреждение «Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи». Адрес: 610033, г. Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18. Тел.: (831) 436-25-31.

Р е з ю м е : Проведен анализ данных литературы и систематизированы результаты многолетних собственных исследований по новой междисциплинарной проблеме, имеющей преимущественное отношение к биологии и медицине, – явлению микроорганизм-ассоциированного кристаллогенеза (МАК). В настоящее время, несмотря на достаточный объем сведений о нем, отсутствуют попытки их интеграции в единую теорию. Поэтому в обзоре приводится краткая характеристика МАК как метаболического феномена, описываются основные функции вызванной микроорганизмами биокристаллизации (протективная; патогенетическая; нутритивно-метаболическая; сигнальная; регуляторная), а также некоторые варианты их реализации (на примере протективной функции).

С учетом локализации образующихся биокристаллов выделены три основных типа МАК: экстрацеллюлярный, примембранный и интрацеллюлярный, четко взаимосвязанные с функциональной значимостью биокристаллических структур.

Представления о молекулярных механизмах МАК сформулированы в форме биохимической концепции, основанной на постепенном усложнении организации будущих биокристаллов при активном участии шаперонов и многочисленных модулирующих факторов.

Большую научно-практическую значимость имеет исследование участия феномена МАК в функционировании различных экологических систем, в частности, системы «микроорганизм-микробиота-макроорганизм». Подобный подход ценен для изучения МАК в связи с кристаллопатологией организма в плане раскрытия ее патогенеза, оптимизации диагностики и нахождения новых методов лечения.

К л ю ч е в ы е с л о в а : микробиота, биокристаллизация, микроорганизм-ассоциированный кристаллогенез

Martusevich A.K., Zimin Yu. V. Physical and chemical processes role in the system «microorganism – man» // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 112–115.

Institute of Traumatology and Orthopedics, Russia, Nizhny Novgorod, Verhne-Volghskaya nab. 18. tel: +7 831 436-25-31

S u m m a r y : We analyzed current status and own research data on new medical and biological problem – microorganism-associated crystallogenesis (MAC). At same time there are a many different facts, which demonstrate MAC presence, but we have no common theory at this phenomenon.

In this review brief characteristics of MAC as a metabolic phenomenon, main functions of microorganisms induced crystallogenesis (protective, pathogenic, nutritive & metabolic, signally, regulatory), and some variants of its realization (on the example of protective function).

There are three major types of MAC in connection with cell-relative biocrystals localization: extracellular, paramembranous and intracellular, which are solidly associated with biocrystal structures functional importance.

Systemized data about MAC molecular mechanisms are formed as biochemical conception, based on gradual organization of biocrystals with active role of chaperons and other modulating factors.

Investigation of MAC phenomenon action in different ecological systems, for example, «microorganism-microbiota-macroorganism» has a large scientific and practice importance. This method is necessary for MAC-associated crystallopathology of human organ in connection with its pathogenesis, diagnostics and management ways.

K e y w o r d s : microbiota, biocrystallization, microorganism-associated crystallogenesis

В настоящее время многие аспекты метаболической активности микроорганизмов изучены достаточно полно. Однако некоторые стороны физиологии и биохимии бактерий до сих пор остаются нераскрытыми. К подобным явлениям можно отнести способность микроорганизмов к формированию структур кристаллического строения [2–4, 10, 16, 17, 20, 21]. Феномен микроорганизм-ассоциированного кристаллообразования (МАК) [3], отнесенный нами ранее к первичной кристаллизации [2], можно рассматривать как вызванный метаболической активностью микроорганизма кристаллогенез [1, 3].

Представляет интерес тот факт, что образование данных биогенных кристаллов является не артефактом, а реализацией генетической программы микроорганизма, имеющей четкое функциональное значение. Анализ отечественной и зарубежной литературы, а также собственные исследования позволили выделить следующие основные функции МАК [4]: протективную; патогенетическую; нутритивно-метаболическую; сигнальную; регуляторную.

Характеризуя вышеперечисленные функции рассматриваемого феномена с позиций их экологической роли в системе «микроорганизм – микробиота – макроорганизм», можно отметить, что протективная способность биогенных кристаллов бактерий направлена на выживание представителей естественной микробиоты различных биотопов при нахождении их либо макроорганизма-хозяина в неблагоприятных условиях [11–14, 16–18, 23]. Нутритивно-метаболическая функция реализуется путем кумуляции нутриентов до момента использования и утилизация не выделенных терминальных и интермедатных метаболитов, а также первично сорбированных на внешней поверхности клеточной стенки токсинов, в том числе ионов тяжелых металлов, в форме кристаллов, с превалирующей примембранной локализацией [3]. Патогенетическая роль МАК может обеспечиваться за счет антагонизма с патогенными микроорганизмами, а также реализации патогенности микроорганизма (например, проникновения в другие биотопы [3, 7, 14, 17]) путем моделированного биокристаллогенеза. Потенциально существующие, но практически не описанные в литературе сигнальная и регуляторная роль биогенных микроорганизм-ассоциированных кристаллических структур имеют в своей сути осуществление информационного обеспечения жизнедеятельности микробиоты и ее внутри- и межбиотопную регуляцию.

Наиболее изученной из перечисленных выше функций МАК является протективная. Важно указать, что она не гомогенна, а может проявляться в нескольких вариантах:

а) *собственно защитная функция*, когда кристаллообразование непосредственно позволяет микроагенту сохранять свою структуру в неприкосновенном состоянии. Примером подобного явления служит формирование белковых капсул из специфического протеина RecA вокруг генетического материала *Escherichia Coli*, что позволяет бактерии препятство-

вать УФ-излучениям и другим повреждающим воздействиям в эксперименте [16, 23]. Аналогичные сведения представлены относительно белков Dps и NAP у других микроорганизмов (*Listeria innocua*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enterica*) [11–14].

Кристаллизация на следующем, более высоком уровне организации живой материи позволяет формировать защитный кристаллический «каркас» для всей бактериальной клетки, причем подобным образом могут воссоздаваться сложные многоэлементные биосистемы, содержащие значительное количество микроорганизмов, связанных исключительно структурой, напоминающей кристаллическую решетку металлов.

б) *кумулятивная функция*, заключающаяся в накоплении микроорганизмом тех или иных соединений. Это достаточно обширная и многогранная функция, связанная с формированием в клетке бактерии или гифе гриба фокуса вещества, находящегося в кристаллической форме. Превалирующей локализацией этих включений является примембранная, примером которой может явиться образование магнетосом в магнетотаксических бактериях [19].

в) *дезинтоксикационная функция*, являющаяся частным, но значимым для самого микроорганизма и его макроокружения (микробиота конкретного биотопа, макроорганизм) случаем кумулятивной функции, и обеспечивающая обезвреживание токсических веществ, поступающих извне [4, 8]. Необычность данной функции определяется тем, что бактерии способны к осуществлению первично парадоксальных явлений – накоплению тяжелых металлов, которые должны были подавить их рост и размножение. Изучение характера включений микроорганизмов демонстрирует присутствие атомов металла в нейтральной для клеток восстановленной форме [8]. Таким образом, микроагенты не только имеют специфические, основанные на явлении биокристаллизации системы детоксикации тяжелых металлов, но и кумулируют последние, предупреждая их повторное попадание во внешнюю среду и окисление до формирования токсичного иона.

Важным моментом в понимании сущности протективной функции МАК является исследование способов ее реализации. Так, путем использования внутриклеточного типа микроорганизм-ассоциированного кристаллогенеза обеспечивается защита генетического материала у эшерихий [16, 23], а также кристаллизация рибосом и других органелл бактериальной клетки. Привлечение внеклеточного типа МАК требуется в случае необходимости защиты всего микроорганизма, также при длительном вынужденном нахождении микроагентов в неблагоприятных условиях. Примембранный тип напрямую связан с кумулятивной и дезинтоксикационной функциями МАК, т. к. большинство внутриклеточных включений имеют подобную локализацию, что объясняется нахождением там большинства ферментных комплексов, формиру-

ющих образование кристаллического состояния кумулируемых веществ [16].

Отдельным аспектом проблемы являются особые формы МАК, например, трансформация вирусных частиц в кристаллическую структуру [2]. В этом случае кристаллизация приобретает характер одной из стадий жизненного цикла вируса в негативной для него среде, уподобляясь процессу капсулообразования и споруляции у бактериальных клеток. Данные факты свидетельствуют о проявлении протективной функции МАК у вирусов.

Суммируя имеющиеся данные о вариантах локализации биогенных кристаллах, образование, существование и/или деградация которых связаны с деятельностью микроорганизмов, можно выделить следующие основные виды МАК:

1. *Экстрацеллюлярный* – кристаллизация обнаруживается на определенном расстоянии от микроорганизма [6, 7, 9, 10].

2. *Примембранный* – кристаллизационный процесс происходит в непосредственной связи с мембраной микробной клетки [8].

3. *Интрацеллюлярный* – осуществляется путем инициации внутриклеточной кристаллизации веществ микроорганизмом [11–19].

Рассматривая некоторые молекулярные механизмы МАК, предлагаем биохимическую концепцию его реализации. Известно, что одним из основных компонентов клеточной стенки бактерий и составным элементом вирусов являются протеогликаны, способные в процессе интеграции, инициированной шаперонами и шаперонинами, выступать в качестве субстрата для синтеза достаточно крупных надмолекулярных комплексов, которые в свою очередь могут образовывать кристаллоподобные структуры, своеобразные «кристаллические мицеллы». Специфичность самих протеогликанов, участвующих в данном полимеризационном процессе, а также шаперонов, его осуществляющих и регулирующих, детерминируется видом и особенностями метаболизма микроорганизма и определяет физико-химические свойства новообразованных псевдокристаллических элементов. Завершающим этапом построения мультикомпонентных систем является интеграция отдельных «кристаллических мицелл» в структуры, видимые в оптический микроскоп, причем форма и конфигурация этих псевдокристаллов являются функцией целого ряда факторов, в совокупность которых, кроме вида, и возможно, штамма микроорганизма, входят характеристики среды кристаллизации (микро- и макроокружение кристаллов). В их числе следует выделить температуру, pH, осмолярность, присутствие инициаторов кристаллогенеза или инициируемых веществ, особенности поверхности, на которой осуществляется кристаллообразование.

В целом, МАК представляется нам как процесс формирования агрегата «кристаллических мицелл» и химически является существованием жидких кристаллов в твердом состоянии. Специфичность состава

и строения псевдокристаллов, генез которых связан с агентами микромира, определяется функциональной значимостью МАК для них, реализуемой при непосредственном участии шаперонов и шаперонинов, которые могут оказаться факторами, лимитирующими характер и функцию рассматриваемого кристаллообразования.

Особо необходимо отметить распространенность явления МАК и его значимость для формирования патологических состояний у человека. В настоящее время описаны многочисленные примеры образования кристаллических элементов в организме, наиболее яркими из которых являются литогенез различной локализации и подагра [1, 5, 20]. Повышенная способность биоматериала этой категории пациентов к формированию регулярных структур дает основание для их кристаллодиагностики, на возможность чего указывают характерные преобразования кристаллогенных и инициирующих свойств биосред [5–7]. Кроме того, существенная роль биокристаллогенеза в механизме формирования отдельных заболеваний [5] (кристаллопатологии) может быть эффективно использована в качестве подхода к их лечению [5, 15] (кристаллотропная терапия).

В ы в о д ы

1. Микроорганизм-ассоциированный кристаллогенез (МАК) – реально существующий метаболический феномен, обусловленный самостоятельной или вызванной внешними факторами активностью агентов микромира.

2. Существует 3 вида МАК (экстрацеллюлярный, парамембранный и интрацеллюлярный), несущих определенную функциональную нагрузку (протективную, нутритивно-метаболическую, патогенетическую, сигнальную или регуляторную).

3. Явление МАК имеет большое значение для функционирования микроорганизмов в эндоэкологической системе «микроорганизм-микробиота-макроорганизм».

Список литературы

1. Воробьев А.В., Мартусевич А.К., Перетягин С.П. Кристаллогенез биологических жидкостей и субстратов в оценке состояния организма. Нижний Новгород: ФГУ «ННИИТО Росмедтехнологий», 2008. – 384 с.
2. Камакин Н.Ф., Мартусевич А.К., Колеватых Е.П. О первичной и вторичной биокристаллизации // Естествознание и гуманизм. – Томск. – 2005. – Т. 2, № 1. – С. 18–19.
3. Мартусевич А.К. Идеология изучения метаболической активности микроорганизмов кристаллографическими методами // Естествознание и гуманизм. – 2007. – Т. 4, № 2. – С. 144.
4. Мартусевич А.К. Об эволюции функций биокристаллогенеза: от микроорганизма до человека // Вестник РАМН. – 2008. – № 6. Прил. – С. 273.
5. Мартусевич А.К. Направленный кристаллогенез как одна из потенциальных перспектив терапии патологии желудочно-кишечного тракта // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2008. – № 2–3. – С. 71–72.
6. Мартусевич А.К., Жданова О.Б., Янченко В.А. с соавт. Информативность изучения дегидратационных

свойств биосред при альвеококкозе // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 9. – С. 54.

7. Мартусевич А.К., Колеватых Е.П. Кристаллоскопическое выявление уровней метаболической активности *Helicobacter pylori* в отношении макроорганизма // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. – № 9. – С. 73.

8. Чубуков В.Ф. Микробы запасают металлы // Химия и жизнь. – 1982. – № 11. – С. 53–55.

9. Юшкин Н.П., Гаврилюк М.В., Голубев Е.А. Сингенез, взаимодействие и коэволюция живого и минерального миров: абиогенные и углеводородные кристаллы как модели протобиологических систем. Концепция кристаллизации жизни // Информационный бюллетень РФФИ. – 1996. – Т. 4. – С. 393.

10. Bajenov L.G., Ruzimurodov M.A., Artyomova E.V. et al. Study and application of crystallogenic properties of *Brucella* for their identification and differentiation // Bull. Int. Sci. Surg. Assoc. – 2008. – Vol. 3, № 1. – P. 22–23.

11. Bozzi M., Mignogna G., Stefanini S. et al. A novel non-heme iron-binding ferritin related to the DNA-binding proteins of the Dps family in *Listeria innocua* // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272. – P. 3259–3265.

12. Ceci P., Ilari A., Falvo E. et al. The Dps protein of *Agrobacterium tumefaciens* does not bind to DNA but protects it toward oxidative cleavage: x-ray crystal structure, iron binding, and hydroxyl-radical scavenging properties // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278. – P. 20319–20326.

13. Ceci P., Mangiarotti L., Rivetti C. et al. The neutrophil-activating Dps protein of *Helicobacter pylori*, HP-NAP, adopts a mechanism different from *Escherichia coli* Dps to bind and condense DNA // Molecular Biology. – 2007. – № 3. – P. 76–84.

14. Halsey T.A., Vazquez-Torres A., Gravdahl D.J. et al. The ferritin-like Dps protein is required for *Salmonella enterica* sero-

var Typhimurium oxidative stress resistance and virulence // Infect. Immun. – 2004. – Vol. 72, № 2. – P. 1155–1158.

15. Hempelmann E. Hemozoin biocrystallization in *Plasmodium falciparum* and the antimalarial activity of crystallization inhibitors // Parasitol. Res. – 2007. – Vol. 100, № 4. – P. 671–676.

16. Lanzov V.A. Hyper-recombination in *Escherichia coli* with and without SOS response. // In.: Recent research development in DNA repair and mutagenesis / Eds. M. Ruiz-Rubio, E. Fl-exandre-Duran, T. Roldan-Arjona. Kerala: Research Signpost, 2002. – P. 21–38.

17. Minsky A., Shimoni E., Frenkiel-Krispin D. Biocrystallization: stress, order and survival // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2002. – N. 3. – P. 50–60.

18. Nair S., Finkel S.E. Dps protects cells against multiple stresses during stationary phase // J. Bacteriol. – 2004. – Vol. 186. – P. 4192–4198.

19. Schüler D. Genetics and cell biology of magnetosome formation in magnetotactic bacteria // FEMS Microbiol. Rev. – 2008. – Vol. 32, № 4. – P. 654–672.

20. Shiekh F.A., Khullar M., Singh S.K. Lithogenesis: induction of renal calcifications by nanobacteria // Urol. Res. – 2006. – Vol. 34, № 1. – P. 53–57.

21. Stickler D.J., Morgan S.D. Modulation of crystalline *Proteus mirabilis* biofilm development on urinary catheters // J. Med. Microbiol. – 2006. – Vol. 55, Pt. 5. – P. 489–494.

22. Tekwani B.L., Walker L.A. Targeting the hemozoin synthesis pathway for new antimalarial drug discovery: technologies for in vitro beta-hematin formation assay // Comb. Chem. High Throughput Screen. – 2005. – Vol. 8, № 1. – P. 63–79.

23. Zhao G., Ceci P., Ilari A. et al. Iron and hydrogen peroxide detoxification properties of DNA-binding protein from starved cells. A ferritin-like DNA-binding protein of *Escherichia coli* // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277. – P. 27689–27696.

© Е.И. Ткаченко, Н.В. Барышникова, Ю.П. Успенский, Е.Б. Авалуева, 2008

© Е.И. Ткаченко, Н.В. Барышникова, Ю.П. Успенский, Е.Б. Авалуева, 2008

ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗ И ДИСБИОЗ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА: БИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ СОСУЩЕСТВОВАНИЯ

Е.И. Ткаченко, Н.В. Барышникова, Ю.П. Успенский, Е.Б. Авалуева
Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия

Чем более продвигается наука
в изучении причин болезней,
тем более выступает то общее
положение, что предупреждать
болезни гораздо легче, чем лечить их
И.И. Мечников

Ткаченко Е.И., Барышникова Н.В., Успенский Ю.П., Авалуева Е.Б. Хеликобактериоз и дисбиоз желудочно-кишечного тракта: биологические и клинические проблемы сосуществования // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 115–120.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУВПО СПб ГМА им. И.И. Мечникова Росздрава), 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47 Тел. (812) 543-96-09, факс: (812) 140-15-24 Эл. почта: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

Резюме: В данной статье представлены результаты исследований, посвященных оценке взаимосвязи хеликобактериоза желудка и дисбиоза желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Установлено, что при *Helicobacter pylori* (HP) -ассоциированной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки (ЯБДК) дисбиоз кишечника присутствует в 100% случаев, при хроническом гастродуодените (ХГД), ассоциированном с HP, дисбиоз кишечника встречается в 80–100% случаев.

У больных ЯБДК степень обсемененности НР слизистой оболочки антрального отдела желудка достоверно связана с повышением количества бактериоидов ($p < 0,05$) и грибов рода *Candida* ($p < 0,05$) и обратно пропорциональна содержанию бифидобактерий ($p < 0,05$) в кишечном содержимом. У больных ХГД степень обсемененности НР слизистой оболочки тела желудка достоверно связана со снижением содержания бифидобактерий ($p < 0,05$) и повышением дрожжеподобных грибов ($p < 0,05$) в кишечном содержимом.

При проведении генетического типирования НР (детекция генов *ureC*, *cagA*, *cagC*, *cagE*, *cagH*, *vacAs1/s2*, *iceA1*, *babA2* методом полимеразной цепной реакции), установлено, что количество генов острова патогенности НР, максимально при ЯБДК, несколько меньше при ХГД и минимально у здоровых добровольцев – носителей инфекции ($p < 0,05$). Были выявлены некоторые генетико-микробиологические корреляции между *cag*-статусом НР (гены *cagA*, *cagC*, *cagE*, *cagH*) и уровнем различных бактерий в толстой кишке у больных ХГД: наличие гена *cagE* было сопряжено со снижением содержания бактериоидов ($p < 0,05$), генов *cagC* и *cagH* – с геном *alp7* *Candida albicans* ($p < 0,05$).

У всех больных ЯБДК выявлялись и НР, и грибы *Candida albicans*. Гены группы *cag* острова патогенности НР встречались достаточно часто: *cagA* – у 88,9%, *cagC* – у 77,8%, *cagE* – у 77,8%, *cagH* – у 77,8% пациентов, при этом преобладала комбинация генов, в которой присутствовали все четыре вышеуказанных гена (92,6% случаев). Гены *Candida albicans sap2* и *alp7* определялись у 100% больных, а ген *hwp1* – у 51,9%. Процент успешной эрадикации составил 66,7%, причем ген *hwp1* грибов *Candida albicans* выявлялся у 44,4% пациентов из этой группы до лечения и лишь у 22,2% после проведения терапии ($p < 0,05$).

Назначение пробиотиков как дополнения к стандартным схемам лечения инфекции НР повышает процент успешной эрадикации НР ($p < 0,05$), причем наилучшие результаты получены при использовании пробиотика, содержащего лактобациллы и бифидобактерии (82%). Это может объясняться тем, что пробиотики обладают самостоятельным противохеликобактерным действием.

Заключение: Хеликобактериоз желудка и дисбиоз ЖКТ являются звеньями одного этиопатогенетического процесса и проявлением общего дисбиоза на фоне развития системных процессов дисрегуляции на уровне макроорганизма.

Существуют взаимосвязи между степенью обсемененности НР, присутствием в геноме НР отдельных генов острова патогенности микроорганизма и содержанием отдельных микроорганизмов в толстой кишке. Выявление высоко вирулентных штаммов НР у больных ЯБДК может быть ассоциировано с носительством *Candida albicans*. Уменьшение частоты встречаемости гена *hwp1* после лечения при сохранении других грибовых маркеров может свидетельствовать об одновременном инфицировании человека несколькими различными штаммами *Candida albicans*.

Добавление пробиотиков к стандартным схемам эрадикационной терапии достоверно повышает процент успешной эрадикации.

К л ю ч е в ы е с л о в а : хеликобактериоз, дисбиоз желудочно-кишечного тракта.

Tkachenko E.I., Baryshnikova N.V., Uspensky Yu. P., Avalueva E.B. Gastrointestinal tract helicobacteriosis and disbiosis: biological and clinical problems of coexistence // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 115–120.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

S u m m a r y : The results of the researches, devoted to an estimation of interrelation stomach helicobacteriosis and disbiosis of gastrointestinal tract (GIT) are given in this article. It has been established, that in patient with *Helicobacter pylori* (HP) -associated duodenal ulcer (DU) are suffering from colon disbiosis in 100% of cases, in patient with HP-associated chronic gastroduodenitis (CGD), colon disbiosis meets in 80–100% of cases.

In patients with DU the degree of contamination HP in mucous membrane of stomach antrum department is authentically connected with increase of bacteroides quantity ($p < 0,05$) and *Candida spp.* ($p < 0,05$) and inversely proportional to the bifidobacteria maintenance ($p < 0,05$) in colon contents. In patients with CGD ХГД the degree обсемененности НР a mucous membrane of a body of a stomach is authentically connected with decrease in the bifidobacteria maintenance ($p < 0,05$) and increase of *Candida spp.* ($p < 0,05$) in colon contents.

At carrying out genetic analysis HP (detection of genes *ureC*, *cagA*, *cagC*, *cagE*, *cagH*, *vacAs1/s2*, *iceA1*, *babA2* by a method polymerase chain reaction), it has been established, that the quantity of genes of HP pathogenicity island (PAI), is maximal in DU patient, it is a little bit less at CGD patient and is minimal at healthy volunteers – carriers of an infection ($p < 0,05$).

Some microbiological correlations between *cag*-status HP (genes *cagA*, *cagC*, *cagE*, *cagH*) and a level of various bacteria in colon in CGD patients have been revealed: presence of a gene *cagA* has been interfaced to decrease in the bacteroides maintenance ($p < 0,05$), genes *cagC* and *cagH* – with a gene *alp7* *Candida albicans* (CA) ($p < 0,05$).

It was determined, that at all DU patients carried both CA and HP before treatment. The HP genes encoding for PAI were determined quite often: *cagA* – at 88,9%, *cagC* – at 77,8%, *cagE* – at 77,8%, *cagH* – at 77,8% of patients. The combination of all four above-named genes was found in 92,6% of cases. CA genes *sap2* and *alp7* were determined in 100% of patients, gene *hwp1* – in 51,9%. After the anti-HP-therapy the percentage of determining of *hwp1* gene decreased by 25%. To other CA genes frequency didn't change. The proportion of successful HP eradication was 66,7%, and in this group of patients the gene *hwp1* of CA was identified by PCR-method in 44,4% of cases before treatment and only in 22,2% – after therapy ($p < 0,05$).

Purpose of probiotics as additions to standard schemes of treatment of infection HP raises percent successful HP eradication ($p < 0,05$), and the best results are received at use of the probiotic containing lactobacillus and bifidobacteria (82%). It could can speak that probiotics possess antiHP-action.

The conclusion: Helicobacteriosis of stomach and disbiosis of GIT could be regarded as a same parts of one etiological and pathogenicity process and display of the general disbiosis on a background of development of system disregulatory processes in macroorganisms. There are interrelations between a degree of HP contamination, presence of separate genes of HP PAI and the maintenance of separate microorganisms in a colon. Revealing is high virulence HP strains at DU patients can be associated with carriage of CA. Reduction of frequency of occurrence of a gene *hwp1* after treatment at preservation of other fungoid markers can testify about simultaneous infection the person several various CA strains. Highly virulent strains of *Helicobacter pylori* can be often associated with carriage of *Candida albicans*. Anti-HP-therapy can significantly decrease the carriage of CA in stomach mucosa. Probiotic using significant increase the percent successful HP eradication.

К е y w o r d s : Helicobacteriosis, disbiosis of gastrointestinal tract:

Среди всех заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) одну из ведущих позиций занимают болезни гастродуоденальной области, такие как хронический гастродуоденит (ХГД), язвенная

болезнь желудка (ЯБЖ) и язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (ЯБДК). В подавляющем большинстве случаев развитие этих заболеваний сопряжено с инфекцией *Helicobacter pylori* (НР). НР – это бак-

терия, обладающая определенными характеристиками: морфологическими (подвижная, спирально или S-образно закрученная, грамтрицательная, неспорообразующая, жгутиковая, длиной 2,5–3,5 мкм, шириной 0,5–1,0 мкм); физиологическими (микроаэрофильная, асахаролитическая, муколитическая, наиболее благоприятные условия для существования при температуре 37–42 °С и рН 6–8) и экологическими (колонирует слизистую оболочку желудка и двенадцатиперстной кишки) [2].

Несмотря на то, что в 1994 г. Международное агентство по изучению рака признало инфекцию НР канцерогеном первого порядка, некоторые исследователи полагают, что данный микроорганизм может вести себя не только как патоген, но и как комменсал и даже как симбионт в зависимости от обстоятельств [8]. В отдельных случаях при мутуалистическом (взаимовыгодном симбиозе для обоих симбионтов) варианте взаимоотношений микроорганизма и макроорганизма, существует необходимость уточнения роли инфекта с учетом его молекулярно-генетических особенностей и степени обсемененности слизистой оболочки желудка (СОЖ) в отношении развития заболеваний.

Установлено, что при НР-ассоциированных заболеваниях гастродуоденальной области практически в 100% случаев выявляется дисбиоз ЖКТ. Это можно объяснить тем, что НР, как и другие медленно действующие терапевтические инфекции, оказывает не только местное негативное действие, но и вызывает системные эффекты: в частности, длительное персистирование инфекта в организме человека нарушает эндозооценоз пищеварительного тракта. Антихеликобактерная терапия, назначение нерациональных схем лечения, укорочение сроков терапии, нарушение режима приема препаратов способствуют появлению антибиотикоустойчивых штаммов НР, а также приводит к развитию антибиотикозависимого дисбиоза ЖКТ. Дисбиоз кишечника лежит в основе нарушений многих функций микрофлоры, и, кроме того, приводит к развитию вторичного иммунодефицита вследствие нарушения функционирования гуморального

звена иммунной системы, что, в свою очередь, вызывает снижение защитных сил макроорганизма и является важным звеном в патогенезе НР-ассоциированных заболеваний. Таким образом, можно сделать вывод, что хеликобактериоз желудка и дисбиоз ЖКТ являются звеньями одного этиопатогенетического процесса и проявлением общего дисбиоза на фоне развития системных процессов дисрегуляции на уровне макроорганизма.

Все вышеперечисленное согласуется с постулатами теории патологии внутренних органов, связанной с терапевтическими инфекциями [6]:

1. Нормальный биоценоз организма – одно из решающих условий здоровья

2. Терапевтические инфекции обладают слабой вирулентностью и патогенностью и для формирования патологии требуют участия других факторов – «факторов риска»

3. Активация эндогенной микрофлоры, ранее существовавшей в организме по принципу мутуализма или комменсализма – завершающий этап снижения иммунобиологической защиты и формирования заболеваний

4. Формируемая патология внутренних органов детерминирована иммунобиологическими свойствами активированной микрофлоры («терапевтические инфекции») и морфофункциональными особенностями органа.

Изучению дисбиотических изменений желудочно-кишечного тракта при хеликобактериозе желудка посвящено множество научных трудов. В ряде исследований установлено, что наличие НР в СОЖ способствует развитию нарушений микрофлоры желудка и двенадцатиперстной кишки, характеризующихся появлением и/или увеличением количества бактерий с патогенными свойствами (золотистый стафилококк, стрептококки, грибы рода *Candida*, условно-патогенная микрофлора и др.) и снижением уровня нормальных представителей микрофлоры в виде лактобацилл, что усугубляется на фоне лечения антибиотиками (табл. 1) [7].

Таблица 1

Микрофлора слизистой оболочки желудка в норме и при заболеваниях гастродуоденальной зоны [4]

Микроорганизмы	Частота выделения у здоровых людей, %	Частота выделения при ЯБЖ, %	Частота выделения при ЯБДПК, %	Частота выделения при ХГ, %
<i>Staphylococcus</i> spp.	61,1	79,2	100	96,2
<i>Helicobacter pylori</i>	33,3	16,7	33	19,2
<i>Streptococcus</i> spp.	55,5	58,3	70,8	62,9
<i>Lactobacillus</i> spp.	50	29,2	48,1	34,6
<i>Bacteroides</i> spp.	16,7	33,3	47,2	23,1
<i>Bacillus</i> spp.	22,2	4,3	16	3,8
<i>Micrococcus</i> spp.	16,7	33,3	40,6	23,1
<i>Corynebacterium</i> spp.	16,7	37,5	23,6	11,5
Enterobacteriaceae	16,7	20,8	66	57,7
<i>Veilonella</i> spp.	-	20,8	17	8,3
<i>Candida</i> spp.	22,2	33,3	44,3	38,5
<i>Actinomyces</i> spp.	5,5	12,5	13,2	11,5

При оценке частоты встречаемости и степени выраженности нарушений микробиоценоза кишечника при воспалительно-деструктивных заболеваниях гастродуоденальной зоны в ряде исследований установлено, что при НР-ассоциированной ЯБДК дисбиоз кишечника присутствует в 100% случаев, преимущественно второй степени тяжести (69%) [4]. При ХГД, ассоциированном с НР, дисбиоз кишечника встречается в 80–100% случаев, 1–3 степени тяжести (69%) [1, 5]. У больных ЯБДК степень обсемененности НР слизистой оболочки антрального отдела желудка достоверно связана с повышением количества бактериоидов ($p < 0,05$) и обратно пропорциональна содержанию бифидобактерий ($p < 0,05$) в кишечном содержимом [4]. У больных ХГД степень обсемененности НР слизистой оболочки тела желудка достоверно связана со снижением содержания бифидобактерий ($p < 0,05$) в кишечном содержимом [1].

Нами получены данные о связи степени обсемененности НР СОЖ и степенью выраженности дисбиоза кишечника при сравнительном исследовании больных ХГД, ассоциированным с НР, и здоровых добровольцев, инфицированных НР. В результате исследования было установлено, что у больных ХГД определялась достоверно более высокая степень обсемененности НР СОЖ и более выраженная степень дисбиоза кишечника, чем у здоровых добровольцев. Кроме того, обращало на себя внимание то, что у больных ХГД уровень бифидобактерий и лактобацилл в толстой кишке был достоверно ниже, чем у здоровых добровольцев, тогда как уровень условно-патогенных микроорганизмов и стафилококков был достоверно выше [1].

За рубежом уже появились исследования, в которых дрожжеподобные микромицеты рассматриваются в качестве переносчиков НР. К этому мнению пришли, определив наличие генов, специфических для НР, в дрожжеподобных грибах, содержащихся в ротовой полости [9]. В связи с этим все большее внимание уделяется изучению взаимосвязи инфекции НР и грибов рода *Candida*. При исследовании состава микробиоты ЖКТ у пациентов с воспалительно-деструктивными заболеваниями верхних отделов органов пищеварения грибы рода *Candida* в гастродуоденальной зоне определялись у 18,7–44,3% пациентов со средней степенью обсемененности 3,48–3,8 lgKOE/г и в кишечнике выявлялись в 20–25% со средней степенью обсемененности 3,6–4,14 lgKOE/г [1, 4, 5]. По результатам одних исследований при ХГД, ассоциированном с НР степень обсемененности этим микроорганизмом СОЖ увеличивалась по мере повышения количества грибов рода *Candida* в толстой кишке, что было справедливо как для тела ($r = 0,28$, $p = 0,032$), так и для антрального отдела желудка ($r = 0,30$, $p = 0,006$) [1]. В других исследованиях при ЯБДК выявлялась прямая зависимость между степенью обсемененности слизистой оболочки антрального отдела желудка НР и содержанием дрожжеподобных грибов в составе кишечной микробиоты ($r = 0,62$, $p = 0,043$) [4].

Поскольку особенности патогенеза хеликобактериоза в значительной мере зависят от патогенности микроорганизма, важным является изучение генетических характеристик НР, которые и определяют степень его патогенности. Нами установлено, что количество генов острова патогенности НР (*ureC*, *cagA*, *cagC*, *cagE*, *cagH*, *vacAs1/s2*, *iceA1*, *babA2*), кодирующих синтез факторов патогенности, максимально при ЯБДК, несколько меньше при ХГД и минимально у здоровых добровольцев – носителей инфекции ($p < 0,05$). Также нами проведена оценка молекулярно-генетических особенностей НР и *Candida albicans* у пациентов с ЯБДК. Для определения генетических особенностей НР нами выбраны гены группы *cag*: *cagA*, *cagC*, *cagE*, *cagH*. Для определения генетических особенностей *Candida albicans* нами выбраны гены: ген *sap2*, ген *hwp1*, ген *alp7*. В исследовании принимали участие 27 больных ЯБДК. Всем обследуемым проводилась фиброгастродуоденоскопия с получением биоптата из антрального отдела желудка для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией вышеперечисленных генов НР и *Candida albicans*. Все пациенты получали стандартную антихеликобактерную терапию (омепразол 40 мг/сут, кларитромицин 1 г/сут, амоксициллин 2 г/сут), антифунгальные средства не назначали. В результате исследования было установлено, что у всех больных ЯБДК до лечения выявлялись и НР и грибы *Candida albicans*. Определяемые гены НР встречались достаточно часто: *cagA* – у 88,9%, *cagC* – у 77,8%, *cagE* – у 77,8%, *cagH* – у 77,8% пациентов, при этом преобладала комбинация, в которой присутствовали все четыре вышеуказанных гена (92,6% случаев). Гены *Candida albicans sap2* и *alp7* определялись у 100% больных, а ген *hwp1* – у 51,9%. После проведения антихеликобактерной терапии процент встречаемости гена *hwp1* снизился до 25%, частота выявляемости других генов *Candida albicans* не изменялась. В группе больных с успешной эрадикацией НР до лечения ген *hwp1* *Candida albicans* определялся методом ПЦР в 44,4% случаев, а после лечения только в 22,2% случаев ($p < 0,05$). Это позволяет сделать вывод, что выявление высоко вирулентных штаммов НР у больных ЯБДК может быть ассоциировано с носительством *Candida albicans*. В то же время, проведение антихеликобактерной терапии способствует значимому снижению частоты встречаемости *Candida albicans* в СОЖ. Возможные механизмы развития этого феномена нуждаются в дополнительном изучении. Кроме того, уменьшение частоты встречаемости гена *hwp1* после лечения при сохранении других грибковых маркеров может свидетельствовать об одновременном инфицировании человека несколькими различными штаммами *Candida albicans*.

Результатов исследований по оценке взаимосвязи молекулярно-генетических особенностей НР со степенью нарушений микрофлоры кишечника в доступной нам литературе не было найдено. По данным наших собственных исследований, посвященных этому вопросу и проведенных на базе Санкт-Петербургской

государственной медицинской академии имени И.И. Мечникова и ГУНИИЭМ РАМН, были выявлены следующие генетико-микробиологические корреляции между *cag*-статусом НР (исследовались гены *cagA*, *cagC*, *cagE*, *cagH*) и уровнем различных бактерий в толстой кишке у больных ХГД: наличие гена *cagE*+ было сопряжено со снижением содержания бактериоидов ($r = -0,65$, $p = 0,009$), имела место четкая тенденция связи между наличием гена *cagA*+ и содержанием *Citrobacter* spp. ($\kappa = 0,31$, $p = 0,095$), гена *cagC*+ – с уровнем *Enterobacter* spp. ($\kappa = 0,35$, $p = 0,054$), гена *cagH*+ – с количеством *Citrobacter* spp. ($\kappa = 0,33$, $p = 0,073$).

Общность механизмов развития хеликобактериоза желудка и дисбиоза кишечника подтверждает и тот факт, что препараты, улучшающие состояние микробиоценоза кишечника, в составе комплексной эрадикационной терапии способствуют достижению более высокого процента эффективной эрадикации НР, чем при использовании только стандартной схемы лечения хеликобактериоза [1, 4, 5]. Основоположителем разработки средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника, как известно, является И.И. Мечников, предложивший использовать в этих целях так называемую «мечниковскую простоквашу». Все препараты, коррегирующие изменения микробиоценоза кишечника, можно называть пробиотиками. Вместе с тем существует четкое разделение этих препаратов на группы в зависимости от состава и, следовательно, механизма действия:

1. Собственно пробиотики – это препараты на основе живых микроорганизмов

2. Пребиотики – неперевариваемые в кишечнике ингредиенты различного происхождения, способные оказывать благоприятный эффект на рост эндогенной

микрофлоры (являются питательной средой для компонентов нормофлоры кишечника)

3. Синбиотики – комбинация про- и пребиотиков

4. Симбиотики – комбинация пробиотиков. В этой группе также выделяют две подгруппы: полипробиотики – препараты, содержащие несколько различных штаммов одного рода микроорганизмов и комбинированные пробиотики – препараты, содержащие различные микроорганизмы (по Ю.М. Дроновой, 2008).

Улучшение результатов лечения НР-ассоциированных заболеваний при дополнительном назначении пробиотиков объясняется тем, что данные препараты оказывают протективное действие по отношению к симбионтной микрофлоре кишечника, обеспечивают профилактику развития под влиянием антибактериальных компонентов эрадикации антибиотикоассоциированной диареи и предупреждают индукцию (прогрессирование) дисбиоза кишечника, обладают самостоятельным противохлакобактерным действием, в связи с чем исследуются возможности использования пробиотиков как и качестве дополнения к стандартным схемам лечения инфекции НР, так и в качестве монотерапии как альтернативного метода лечения хеликобактериоза. Данные литературы и собственных исследований об эффективности пробиотиков в лечении НР-ассоциированных заболеваний представлены в таблице 2 и на рисунках 1–2.

В ряде случаев при избыточном росте условно-патогенных микроорганизмов в качестве альтернативы антибактериальным препаратам целесообразным является использование бактериофагов с последующим назначением пробиотиков для закрепления положительного терапевтического эффекта. Бактериофаги

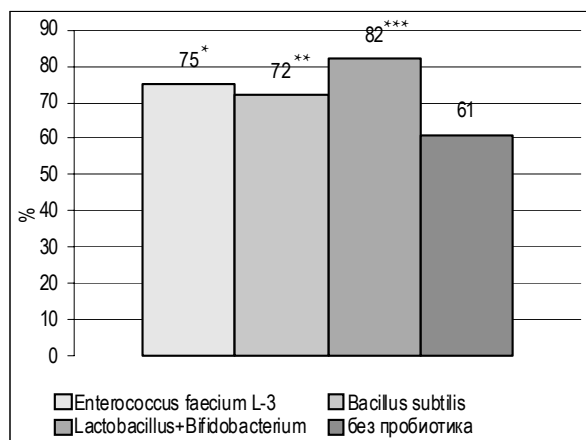


Рис. 1. Оценка эффективности эрадикации НР у больных ХГД при использовании различных схем терапии: стандартная эрадикация+пробиотики

(* – $p < 0,05$ – различия между группой исследования 1 и группой сравнения статистически достоверны; ** – $p < 0,05$ – различия между группой исследования 2 и группой сравнения статистически достоверны; *** – $p < 0,05$ – различия между группой исследования 3 и группой сравнения статистически достоверны). По оси абсцисс – вид пробиотика; По оси ординат – % успешной эрадикации

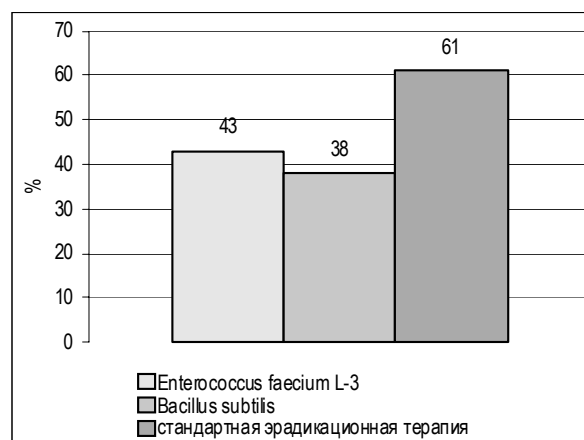


Рис. 2. Оценка эффективности эрадикации НР у больных ХГД при использовании различных схем терапии (монотерапия пробиотиками или стандартная эрадикационная терапия)

По оси абсцисс – вид терапии; по оси ординат – % успешной эрадикации

Таблица 2

Опыт использования пробиотиков для достижения эрадикации НР [3]

Пробиотики в составе комплексной эрадикационной терапии	Пробиотики в качестве монотерапии
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus clausii</i> (Nista E.S. et al. 2004) • <i>Lactobacillus casei</i> (Tursi A. et al. 2004, Sykora J. et al. 2005) • <i>Lactic acid bacteria</i> (Plewinska E.M. et al., 2005) • <i>Bacillus subtilis</i> (Ткаченко Е.И. и соавт., 2005) • <i>Bifidobacterium</i> (Ткаченко Е.И. и соавт., 2004) • <i>Lactobacillus GG</i> в (Armuzzi A., Gremonini F. и соавт., 2005) 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus salivarius</i> (Aiba Y. 1998) • <i>Lactobacillus johnsonii</i> LA1, <i>Lactobacillus casei</i> YIT 9029 и <i>Lactobacillus amylovorus</i> DCE 471 (Avonts L et al. 2001) • <i>Lactobacillus gasseri</i> (Sakamoto I. Et al., 2001) • <i>L. acidophilus</i> (Canducci F. et al. 2002) • <i>Lactobacillus acidophilus</i>, <i>Lactobacillus casei</i>, <i>Lactobacillus bulgaricus</i>, <i>Streptococcus thermophilus</i> (Wendakoon C.N. et al., 2002) • <i>Enterococcus faecium</i> (Симаненков В.И. и соавт., 2004) • <i>Saccharomyces boulardii</i> (Vandenplas Y. et al., 2005)

(от греч. φάω – пожирать) – это препараты вирусного происхождения, избирательно поражающие бактериальные клетки: размножаясь внутри бактерий, вызывают их лизис.

Таким образом, в лечении больных с НР-ассоциированными заболеваниями становится очевидной необходимость проведения не только стандартной антихеликобактерной терапии, но и терапии, направленной на защиту и нормализацию эндоекологии организма, повышение его адаптивных возможностей. Препараты, улучшающие микробиоценоз кишечника, способствуют не только повышению процента эффективной эрадикации, но и предупреждают развитие и позволяют в значительной степени снизить побочные эффекты антибиотиков, входящих в стандартные схемы антихеликобактерной терапии, а также обеспечивают улучшение адаптивных возможностей организма человека в целом посредством восстановления баланса между макроорганизмом и его микробиотой.

Список литературы

1. Барышникова Н.В. Клинико-микробиологическая характеристика микробиоценоза кишечника и коррекция его нарушений у больных хроническим гастродуоденитом, ассоциированным с *Helicobacter pylori*. Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.47, 03.00.07. – СПб, 2006. – 24 с.
2. Барышникова Н.В., Ткаченко Е.И., Успенский Ю.П., Саторов С., Муминов Д.С., Суворов А.Н. Молекулярно-ге-

нетическая диагностика инфекции *Helicobacter pylori* как основа для оптимизации показаний к эрадикационной терапии // Клинико-лабораторный консилиум. – 2006. – № 10–11, С. 28–35.

3. Барышникова Н.В., Суворов А.Н. Дисбиоз кишечника и хеликобактериоз желудка // Дисбиоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению / Под редакцией проф. Е.И. Ткаченко, проф. А.Н. Суворова. – СПб: СпецЛит, 2007. – 238 с. (глава № 9, С. 94–107).

4. Захарченко М.М. Диагностика и коррекция нарушений кишечного микробиоценоза у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки неосложненного течения: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб, 2003. – 24 с.

5. Козлова Д.И. Состояние кишечного микробиоценоза и течение *H. pylori*-ассоциированного гастрита в условиях эрадикационной и синбиотической терапии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб, 2004. – 21 с.

6. Ткаченко Е.И. Питание, эндоекология человека, здоровье, болезни. Современный взгляд на проблему их взаимосвязей // Терапевтический архив. – 2004. – № 2. – С. 67–71.

7. Чернин В.В., Червинец В.М., Бондаренко В.М., Базлов С.Н. Язвенная болезнь, хронический гастродуоденит и эзофагит в аспекте дисбактериоза гастродуоденальной зоны. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2004. – 200 с.

8. Blaser M.J. Hypothesis: changing relationships of *Helicobacter pylori* and humans: implications for health and disease. // J Infect Dis., 1999, Vol. 179 (6), P. 1523–1530.

9. Siavoshi F., Salmanian A. H., Kbari F. A., Malekzadeh R., Massarrat S. Detection of *Helicobacter pylori*-specific genes in the oral yeast // *Helicobacter*. – 2005. – Vol. 10 (4). – P. 318–322.

© А.Г. Бойцов, Л.Ю. Нилова, Е.А. Оришак, 2008
© A.G. Boitsov, L. Ju. Nilova, E.A. Orishak, 2008

ДИСБИОТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА: ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ И КОРРЕКЦИИ

А.Г. Бойцов, Л.Ю. Нилова, Е.А. Оришак

Санкт-Петербургская Государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова

Бойцов А.Г., Нилова Л.Ю., Оришак Е.А. Дисбиотические нарушения микрофлоры толстого кишечника: проблемы диагностики и коррекции // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 120–123.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному разви-

тию Российской Федерации» (ГОУВПО СПб ГМА им. И.И. Мечникова Росздрава), Россия, 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47 Тел. (812) 543-96-09, факс: (812) 140-15-24 Эл. почта: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

Резюме. Бактериологическое исследование испражнений – необходимый элемент диагностики дисбактериоза кишечника. При этом, в первую очередь, следует исключить присутствие возбудителей кишечных инфекций. Перед назначением пробиотиков желательно определить степень их адгезии к эпителию пациента и их антагонистические свойства по отношению к условно-патогенным бактериям и представителям нормальной микрофлоры, выделенных от него.

Ключевые слова: дисбактериоз, адгезия, антагонизм.

Boytsov A.G., Nilova L. Yu., Orishak E.A. Large intestine microflora disbiotic disturbances: diagnostics and correction problems // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 120–123.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», Russia, 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

Summary: The bacteriological examination of faeces is the essential part of intestinal disbacteriosis diagnostics. It is necessary to exclude the presence of enteric infections agents. It is advisable before probiotics prescription to evaluate the probiotics adhesion degree to the patient epithelial cells and their antagonistic activity against patient conditionally pathogenic microorganisms and normal microflora representatives.

Keywords: disbacteriosis, adhesion, antagonism.

Лабораторные исследования с целью диагностики дисбиоза кишечника в нашей стране чрезвычайно востребованы и выполняются в десятках лабораторий. Тем не менее, отношение к целесообразности самого исследования не однозначно. Необходимость этого исследования некоторыми микробиологами полностью отрицается. Так, профессор А.Н. Маянский пишет: «Фактически это дорогостоящее (тем более, что тестирование рекомендуется делать в динамике), трудоемкое исследование с невысокой (если не с нулевой) отдачей. Принимая во внимание огромный опыт такого рода исследований, представляется возможным почти безошибочно ставить регламентированный инструкциями диагноз «дисбактериоз», опираясь на клинику» [4]. С ним солидарны и многие гастроэнтерологи, подчеркивающие, что препараты типа лактулоза, бифидумбактерин, хилак, а также многие другие, способствующие нормализации состава микрофлоры можно назначить и не зная количества лактобактерий и бифидобактерий в испражнениях. В то же время, действующий ОСТ 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» провозглашает: «Поскольку дисбактериоз кишечника в ряде случаев протекает бессимптомно, решающее значение при постановке диагноза имеют микробиологические показатели» [5].

Перечень методов, которые в разные годы предлагались разными авторами для диагностики дисбиотических нарушений чрезвычайно обширен и неуклонно расширяется:

- бактериологическое исследование кала;
- копрологическое исследование;
- биохимическое исследование кала;
- газово-жидкостная хроматография фекалий;
- генодиагностика
- бактериологическое исследование аспирата двенадцатиперстной и тощей кишки;
- бактериологическое исследование соскоба со слизистой оболочки толстой или прямой кишки;
- определение скатола и индола в моче;
- дыхательный водородный тест, проводимый с глюкозой или лактулозой и другие.

На наш взгляд, для решения вопроса о необходимости лабораторных исследований при диагностике дисбиоза кишечника, а также о необходимом объеме и методах подобных исследований, необходимо четко сформулировать вопросы, ответы на которые лечащий врач должен получить с помощью лабораторий.

А.Г. Боковой в известном руководстве по детским инфекционным болезням под редакцией В.Ф. Учайкина отмечает: «Наиболее сложно в порядке дифференциального диагноза с дисбактериозом определить острую кишечную инфекцию, вызванную условно-патогенным возбудителем (клебсиеллой, протеем, синегнойной палочкой и др.). При этом обязательно следует сначала провести скрининг кишечных инфекций, вызванных патогенными возбудителями» [7]. По данным Е.В. Войтенковой и соавт., патогенные энтеробактерии были обнаружены у 0,7% лиц, обследованных по поводу дисбиоза кишечника [2]. Истинный уровень распространения патогенных микроорганизмов у этой группы больных очевидно выше, так как авторы работы не проводили исследования на кампилобактеры, вирусы, простейшие, возможные возбудители ОКИ.

В ОСТ 91500.11.0004-2003 приведена информация о содержании в фекалиях здоровых людей 15 групп микроорганизмов: бифидобактерии, лактобактерии, бактероиды, энтерококки, фузобактерии, эубактерии, пептострептококки, клостридии, *E. coli* типичные, *E. coli* лактозонегативные, *E. coli* гемолитические, другие условно-патогенные энтеробактерии (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Citrobacter* и др.), стафилококк золотистый, стафилококки сапрофитный и эпидермальный, дрожжеподобные грибы рода *Candida*, неферментирующие бактерии (*Pseudomonas*, *Acinetobacter* и др.) [5]. Достаточно ли этих 15 групп для описания всего многообразия микрофлоры кишечника? Очевидно, нет. Например, здесь не упоминаются метанобразующие археобактерии из рода *Methanobrevibacter*, количество которых в испражнениях может достигать 10^9 кл/г, что сопоставимо с численностью бифидобактерий, бактероидов и др. Значение *Methanobrevibacter* для экологии кишечника сейчас обсуждается [11]. Не-

льзя исключить присутствие в составе кишечной микрофлоры и некультивируемых *in vitro* видов. Следует признать, что дать исчерпывающую характеристику состава нормальной микрофлоры кишечника не возможно даже в научных, а тем более в практических лабораториях.

Таким образом, бесконечно расширять круг определяемых микроорганизмов бессмысленно. По-видимому, надо уделять внимание только тем группам бактерий, количество которых в той или иной степени влияет на тактику лечения пациента. Можно надеяться, что по мере расширения круга наших знаний будет возможно установить конкретные клинические показания для определения отдельных групп бактерий. Например, выявление малоинформативной в большинстве случаев, группы анаэробных пептострептококков может оказаться полезным для диагностики язвенного колита [10]. При обследовании больных с дисбиозами на фоне антибиотикотерапии необходимо выявление токсинов *C. difficile* иммунохроматографическим методом с помощью наборов BD ColorPAC™ Toxin A (Becton Dickenson), *C. difficile* Toxin A test (Oxoid Ltd.), ImmunoCard Toxin A test (Meridian Diagnostics Inc.) и т. п.

В большинстве случаев, в частности при контроле эффективности терапии дисбиозов, при обследовании детей первого года жизни и т. п., можно ограничиться определением бифидобактерий и клостридий или бифидобактерий, лактобактерий и клостридий. Основное внимание в этих случаях, по нашему мнению, должно уделяться условно-патогенным бактериям и грибам, численность которых чрезмерна.

Следует также принять во внимание точность определения количества микроорганизмов в исследуемом материале. Титрационный посев в полужидкие среды, используемый большинством лабораторий для определения количества бифидобактерий и клостридий в испражнениях, позволяет определить наиболее вероятное число (НВЧ) в 1 г испражнений и характеризуется невысокой точностью. В этом случае доверительный интервал, в котором может находиться истинное значение определяемого показателя, рассчитывается путем умножения (верхняя граница) и деления (нижняя граница) наиболее вероятного числа на коэффициент 14,45. Например, если НВЧ составляет 10^9 кл/г, истинное количество бифидобактерий может находиться в интервале от $6,9 \cdot 10^7$ до $1,4 \cdot 10^{10}$ кл /г. Очевидно, что такая точность не устраивает лечащего врача.

Повысить точность метода можно, увеличив число рядов титрования. При использовании трехрядного метода значение упомянутого коэффициента снижается с 14,45 до 4,68, но это ведёт к существенному увеличению себестоимости исследования. Альтернативой является применение плотных питательных сред для определения бифидобактерий. В этом случае ошибка метода рассчитывается как корень квадратный из общего числа бактерий, выросших на плотной

среде и существенно меньше таковой, при использовании титрационного метода.

При коррекции дисбиотических нарушений кишечной микрофлоры, одновременно со стимуляцией «полезной» составляющей микробиоты, необходимо подавить микроорганизмы, численность которых чрезмерна. Арсенал лекарственных препаратов и пищевых добавок, предлагаемых для этой цели, огромен. Выбор оптимальной схемы коррекции состава микрофлоры без лабораторных исследований крайне затруднен.

Во-первых, коррекция состава факультативно-анаэробной части микрофлоры кишечника требует назначения таких препаратов, как бактериофаги и антибиотки. Их правильный выбор невозможен без адекватного лабораторного пособия. Во-вторых, информация об облигатно-анаэробной составляющей микрофлоры необходима для оценки эффективности терапии. В-третьих, специальные лабораторные тесты могут потребоваться для облегчения выбора пробиотиков. Необходимость в таких тестах ещё до конца не осознана медицинской общественностью, а техника их выполнения не стандартизирована.

Среди практикующих врачей широко распространено мнение, которое упорно поддерживается производителями пробиотических препаратов, о том, что пробиотики могут назначаться без проведения каких-либо лабораторных исследований, так как универсальны, помогут любому в любой ситуации. К сожалению, это не так и к применению подобных препаратов есть свои показания и противопоказания. В частности, установлено, что пробиотические препараты могут подавлять индигенные лактобациллы пациента. По мнению Н.А. Глушановой, Б.А. Шендерова, «при выборе пробиотиков следует предварительно исследовать *in vitro* характер взаимоотношений пробиотических микроорганизмов с индигенными лактобациллами будущего реципиента» [3]. Поэтому в перечень лабораторных исследований при выборе пробиотика следует включить тест на его совместимость с микрофлорой пациента.

Широкой известностью пользуются на сегодняшний день препараты, приготовленные на основе *Bacillus*. Они содержат различные штаммы *B. subtilis* (гинеспорин (Украина), споробактерин (Россия), бактиспорин (Россия), энтерогермин (Италия)), *B. cereus* (бактисубтил (Франция), цереобиоген (Китай)) или комбинацию нескольких видов, например, *B. subtilis* + *B. licheniformis* (биоспорин (Украина)). По утверждению производителей, это штаммы обладают высокой антагонистической активностью в отношении широкого круга условно-патогенных микроорганизмов. В отличие от антибиотиков, эти препараты назначают без предварительного тестирования их эффективности *in vitro* по отношению к штаммам, выделенным от пациента. Действительно ли в этом нет необходимости? Данные литературы свидетельствуют об обратном. Так, по данным N. Tamehiro МИК продуцируемого *B. subtilis* антибиотика бацилисоцина

(bacilysocin) для различных штаммов *S. aureus* составляла от 25 до более 100 ($\mu\text{g/ml}$) [13]. МИК продуцируемого *B. subtilis* амикоумаина А (amicoumascin А) для *H. pylori* колеблется, по крайней мере, от 0,75 до 2,5 ($\mu\text{g/ml}$) [12]. Безусловно, механизмы антагонистического действия бацилл, бифидо- и лактобактерий нельзя сводить только к продукции бактериоцинов и антибиотиков. Такие механизмы, как продукция кислот, перекисей, индукторов иммунного ответа и т. п., обладают изначально широким спектром активности. Но известны и внутривидовые различия по кислотоустойчивости, резистентности к перекисям и т. п. Поэтому определение антагонистической активности *in vitro* по отношению к штаммам условно-патогенных бактерий, выделенных от пациента, должно входить в арсенал методов, используемых при подборе пробиотиков.

Способность к адгезии к эпителиальным клеткам хозяина – признанный тест при отборе потенциальных штаммов пробиотиков [8]. Однако, как было показано нами ранее на примере буккального и вагинального эпителиев, адгезивная активность – сугубо индивидуальное свойство: штамм пробиотика, обладающий высокой адгезией к эпителию пациентки «А», может практически не прикрепляться к эпителию «Б» [1].

Оценивая многочисленные литературные данные о клинической эффективности применения пробиотиков J.S. Huang et al. отметили: «в настоящее время мы имеем некоторые несомненно положительные факты, большие ожидания и много оставшихся без ответа вопросов» [9]. С этим согласуется мнение А. Салливан, К. Норд: «Получены многообещающие результаты опытов *in vitro* и на животных. Однако часто они не согласуются с данными исследований у людей» [6]. Перечень подобных высказываний может быть продолжен. Клинический опыт применения пробиотиков не однозначен. Возможно, что одна из причин неудач пробиотической терапии – выбор препаратов «наугад», и внедрение специальных лабораторных тестов для их подбора повысит доверие к пробиотикам.

Список литературы

1. Бойцов А.Г. и др. Адгезия лактобактерий к клеткам вагинального и буккального эпителия // Вестник СПбГМА им. И.И. Мечникова. – 2004. – № 4. – С. 191–193.
2. Войтенкова Е.В., Матвеева З.Н., Кафтырева Л.А. Находки возбудителей острых кишечных инфекций при исследовании на дисбиоз кишечника // В кн.: Идеи Пастера в борьбе с инфекциями. – СПб: НИИЭМ, 2008. – С. 113.
3. Глушанова Н.А., Шендеров Б.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro* // Ж. микробиологии. – 2005. – № 2. – С. 56–61.
4. Маянский А.Н. Микробиология для врачей: очерки патогенетической микробиологии. – Н. Новгород: Изд-во НГМА, 1999. – С.
5. Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ 91500.11.0004–2003, Приказ Министерства здравоохранения РФ № 231 от 09.06.2003).
6. Салливан А., Норд К. Место пробиотиков в терапии инфекций желудочно-кишечного тракта у человека. // Клиническая микробиология и антимикробная терапия. – 2003. – т. 5. – № 4. – с. 299–398.
7. Учайкин В.Ф. Руководство по инфекционным болезням у детей. – М.: Гэотар Медицина, 2004. – 824 с.
8. Dunne C. et al. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. // The American Journal of Clinical Nutrition. – 2001. – v. 73 (suppl). – P. 386S–392S.
9. Huang J.S. et al. Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: a meta-analysis. // Digestive Diseases Sciences. – 2002. – v. 47. – № 11. – P. 2625–2634.
10. Macfarlane S. et al. Chemotaxonomic analysis of bacterial populations colonizing the rectal mucosa in patients with ulcerative colitis. // Clinical Infectious Diseases. – 2004. – v. 38 (12). – № 6. – P. 1690–1699.
11. Scanlan P.D., Shanahan F., Marchesi J.R. Human methanogen diversity and incidence in healthy and diseased colonic groups using *mcrA* gene analysis. // BMC Microbiology. – 2008. – V. 8. – P. 79.
12. Pinchuk I.V. et al. In vitro anti-helicobacter pylori activity of the probiotic strain bacillus subtilis 3 is due to secretion of antibiotics // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2001. – V. 45. – № 11. – P. 3156–3161.
13. Tamehiro N. et al. Bacilysocin, a novel phospholipid antibiotic produced by *Bacillus subtilis* 168. // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2002. – V. 46. – № 2. – P. 315–320.

© К.Г. Косякова, А.Г. Бойцов, 2008
© K.G. Kosyakova, A.G. Boitsov, 2008

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ЗА ИНФЕКЦИЯМИ В ОБЛАСТИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

К.Г. Косякова, А.Г. Бойцов

Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия

Косякова К.Г., Бойцов А.Г. Совершенствование методов бактериологического контроля за инфекциями в области хирургического вмешательства // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 120–126.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУВПО СПб ГМА им. И.И. Мечникова Росздрава), 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47 Тел. (812) 543-96-09, факс: (812) 140-15-24 Эл. почта: mechnik@westcall. net; www.mechnik.spb.ru

Р е з ю м е . Предложена дифференциальная среда для одновременного определения ЛКП, *S. aureus* и *P. aeruginosa* при санитарно-бактериологических исследованиях больничной среды методами отпечатков и смывов. Использование такой среды обеспечивает снижение затрат на проведение исследований и их трудоёмкости. Разработаны рекомендации по выбору шага разведений и необходимого числа повторения исследований для получения достоверного результата при определении минимальной бактерицидной концентрации дезинфектантов и антисептиков.

К л ю ч е в ы е с л о в а : санитарно-бактериологические исследования больничной среды, дезинфектанты, антисептики.

Kosyakova K.G. Boitsov A.G. Development of the Methods of Bacteriological Control for the Infections in Surgical Interventions // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 120–126.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall. net; www.mechnik.spb.ru

S u m m a r y . The authors suggested the complex differential medium for simultaneous detection of lactose-positive *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* for sanitary-bacteriological investigations of environments by prints and washings methods. Use of this medium is work and media-saving approach. Recommendations for the proper choice of the dilutions steps and necessary number of the tests' repeats for detection of minimal bacteriocidal concentration of disinfectants and antiseptics to obtain valid results were offered.

K e y w o r d s : sanitary-bacteriological investigations of hospital environment, disinfectants, antiseptics.

Проблема борьбы с госпитальными инфекциями является актуальной во всех странах мира [2, 9]. В то же время теоретические представления об источниках инфекции в области хирургического вмешательства на протяжении последних лет претерпели существенные изменения. Если до недавнего времени ведущую роль в возникновении такого рода патологических процессов отводили экзогенным источникам, то теперь всё большее внимание уделяется эндогенному инфицированию [6]. Изменение взглядов на господствующий источник инфекции влечёт за собой и изменение во взглядах на роль санитарно-бактериологических методов исследования в обеспечении предупреждения внутрибольничных инфекций и в том числе инфекций в области хирургического вмешательства.

По-нашему мнению, в современных условиях изменяется не потребность в применении санитарно-бактериологических исследований при мониторинге санитарно-эпидемиологической ситуации в стационарах, а цель подобных исследований. Разнообразие применяемых в настоящее время дезинфектантов практически исключает применение химических методов для объективного подтверждения факта осуществления дезинфекционных мероприятий в полном объёме. Единственным методом, позволяющим решить эту задачу, является бактериологический.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – совершенствование санитарно-бактериологических методов контроля эффективности дезинфекционных мероприятий.

Задачи исследования – разработка универсальной питательной среды для санитарно-бактериологических исследований больничной среды, а также оптимизация методов определения устойчивости/чувствительности микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам.

М а т е р и а л и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . Проведены исследования по подбору компонентов комбинированной питательной среды

для одновременного определения лактозопозитивных кишечных палочек (ЛКП), *S. aureus* и *P. aeruginosa* при санитарно-бактериологических исследованиях больничной среды методами отпечатков и смывов. Смывы производили стерильными предварительно увлажненными в питательной среде тампонами, после чего тампоны сразу же погружали 0,1% пептонную воду и через 24 ч инкубации при 37°С производили высевы одновременно на среду Эндо, желточно-солевой и кровяной агар, а также на разработанную комбинированную дифференциальную среду с последующей идентификацией ЛКП, *S. aureus* и *P. aeruginosa*.

Для оценки чувствительности (устойчивости) микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам использовался модифицированный нами суспензионный метод с применением микропанелей [7], в котором для получения возможности определения минимальной бактерицидной концентрации (МБК) был добавлен этап нейтрализации дезинфектанта 3% раствором Твин 80. Также, мы отказались от использования индикатора pH в составе жидкой питательной среды, ограничившись регистрацией наличия жизнеспособных бактерий по помутнению питательной среды.

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я и и х о б с у ж д е н и е . По-нашему мнению, контроль уровня бактериального загрязнения больничной среды методом смывов следует расценивать как чисто «полицейское» или «психологическое» мероприятие по отношению к персоналу стационара, и следовательно, затраты на его осуществление должны быть минимизированы. Это может быть достигнуто за счет ограничения числа определяемых групп (видов) бактерий и используемых для этого питательных сред и материалов. Так, число определяемых групп микроорганизмов можно свести к трём:

– лактозопозитивные кишечные палочки (ЛКП), как традиционный показатель фекального загрязнения;

– *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, как актуальные грамположительный и грамотрицательный возбудители гнойно-септических инфекций.

Для реализации данного подхода нами была разработана и апробирована дифференциальная питательная среда для одновременного определения ЛКП, *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Среда обеспечивает рост аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, позволяет визуально дифференцировать ЛКП, *P. aeruginosa* и *S. aureus*, не окрашивает поверхности при заборе проб методом отпечатков.

Введение в состав питательной среды каких-либо элективных факторов представляется нецелесообразным, так как в смывах с объектов больничной среды, согласно литературным данным [5] и данным собственных исследований, преобладают микроорганизмы в монокультурах.

По результатам исследований по подбору отдельных компонентов предложена следующая пропись среды «лактозо-желточный агар» для санитарно-бактериологических исследований объектов больничной среды [8]:

- питательный агар – 35 г,
- лактоза – 10,0 г,
- индикатор Андрее – 10,0 мл,
- дистиллированная вода до 1 л,
- эмульсия куриного желтка по объему – 20%.

Все ингредиенты, кроме куриного желтка, смешивают в дистиллированной воде при кипении, устанавливают pH 7,2–7,4, стерилизуют в автоклаве при 0,5 атм. в среде 112°С 20 минут. К остуженной до 45–50°С среде добавляют 20% (по объему) стерильной эмульсии куриного желтка (1 желток на 150–200 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия).

Среда разливается в стерильные бактотесты и может применяться для исследования объектов больничной среды методом отпечатков. Кроме того, благодаря дифференцирующим свойствам лактозо-желточного агара для ЛКП, *P. aeruginosa* и *S. aureus* представляется целесообразным применение данной среды вместо среды Эндо, желточно-солевого и кровяного агаров для высевов с жидких питательных сред при

исследовании объектов методом смывов. В последнем случае в качестве единой среды обогащения используется 0,1% пептонная вода.

Оценка ферментации лактозы проводится через 18–24 часа, а лецитиназной активности – через 24–48 часов. На предложенной питательной среде лактозоотрицательные культуры вырастают в виде бесцветных полупрозрачных колоний, а лактозоположительные – в виде розовых колоний. Культивирование *P. aeruginosa* на лактозо-желточном агаре не влияет на интенсивность их пигментообразования, по сравнению с ростом на мясо-пептонном агаре, при этом пигментообразующие штаммы *P. aeruginosa* вырастают в виде полупрозрачных колоний сине-зеленого цвета, а колонии непигментирующих штаммов – бесцветны. Культуры *S. aureus* представляют собой матовые розоватые колонии, окруженные зоной помутнения с радужным венчиком – лецитовителлазной реакцией.

Таким образом, предложенная нами среда обладает достаточными дифференцирующими свойствами и является более экономичной при исследовании поверхностей методами отпечатков и смывов.

Другой важной практической проблемой, которая может быть разрешена только с помощью микробиологических методов, является мониторинг чувствительности госпитальных штаммов микроорганизмов к применяемым в стационаре дезинфектантам. Необходимость таких исследований подтверждается многочисленными данными литературы о появлении в процессе длительного применения дезинфектантов и антисептиков устойчивых штаммов микроорганизмов [3, 10], которые зачастую характеризуются повышенной устойчивостью и к антибиотикам.

Точность определения минимальной бактерицидной концентрации (МБК) препарата зависит от шага разведений препарата и числа параллельных рядов испытаний. В литературе нет единых рекомендаций выбора шага разведения дезинфицирующего средства и необходимого числа повторения исследований для получения достоверного результата. Нами были проведены исследования с шагом разведения 2, 5 и 10 при 8-кратном повторении (табл. 1).

Таблица 1

Определение минимальной бактерицидной концентрации Лизоформина-специаль и Лизоформина 3000 для различных штаммов *P. aeruginosa* с шагом разведения дезинфектанта 2, 5, 10

№ Штамма	Дезинфектант	Шаг	МБК по данным из 8 определений, мкг/мл		Средние МБК, мкг/мл М ± tm
			Максимальная	Минимальная	
2	Лизоформин3000	2	1,3	0,6	0,9 ± 0,3
976	Лизоформин3000	2	10,0	2,5	5,9 ± 2,2
1245	Лизоформин3000	2	5,0	1,3	2,7 ± 0,9
15442	Лизоформин3000	2	2,5	0,6	1,3 ± 0,4
976	Лизоформин специаль	2	3,8	0,9	2,2 ± 0,8
1245	Лизоформин специаль	2	3,8	0,9	1,8 ± 0,8
2	Лизоформин3000	5	4,0	0,8	3,2 ± 1,2
976	Лизоформин3000	5	20,0	4,0	16,0 ± 6,2
1245	Лизоформин3000	5	4,0	4,0	4,0 ± 0,0

Таблица 1 (продолжение)

Определение минимальной бактерицидной концентрации Лизоформина-специаль и Лизоформина 3000 для различных штаммов *P. aeruginosa* с шагом разведения дезинфектанта 2, 5, 10

№ Штамма	Дезинфектант	Шаг	МБК по данным из 8 определений, мкг/мл		Средние МБК, мкг/мл $M \pm tm$
			Максимальная	Минимальная	
15442	Лизоформин3000	5	4,0	4,0	4,0 \pm 0,0
976	Лизоформин специаль	5	3,0	0,6	2,7 \pm 0,7
1245	Лизоформин специаль	5	7,5	1,5	6,0 \pm 2,3
2	Лизоформин3000	10	20,0	2,0	13,3 \pm 7,8
976	Лизоформин3000	10	20,0	20,0	20,0 \pm 0,0
1245	Лизоформин3000	10	20,0	20,0	20,0 \pm 0,0
15442	Лизоформин3000	10	20,0	2,0	20,0 \pm 0,0
976	Лизоформин специаль	10	15,0	15,0	15,0 \pm 0,0
1245	Лизоформин специаль	10	7,5	7,5	7,5 \pm 0,0

С целью определения необходимого числа повторений были рассчитаны \log значений МБК, полученных при восьмикратном повторении исследований, с основаниями 2, 5 и 10 в зависимости от шага разведений. Для полученных значений МБК были рассчитаны значения δ и затем – необходимое количество повторений ($N_{\text{ср.}}$) [1].

При шаге разведения 2 необходимое число повторений составило 8 ± 2 , при шаге $5-3 \pm 2$, при шаге $10-2 \pm 2$.

В ы в о ы

1. Предложенная дифференциальная среда для санитарно-бактериологических исследований больной среды методами отпечатков и смывов обеспечивает трехкратную экономию питательных сред и труда.

2. При определении чувствительности (устойчивости) бактерий к дезинфектантам и антисептикам с использованием микропанелей при 10-кратном разведении дезинфектанта исследование достаточно проводить 1 раз, но получаемые при этом данные могут быть использованы лишь для ориентировочной оценки уровня МБК и для выбора необходимого количества разведений препарата с меньшим шагом при последующих исследованиях.

3. В связи с меньшей гетерогенностью бактериальных популяций по чувствительности к дезинфектантам по сравнению с антисептиками [4], для определения чувствительности (устойчивости) бактерий к дезинфектантам оптимальным является шаг разведения 5 при трехкратном повторении исследований, а для антисептиков – 2 при восьмикратном повторении.

Список литературы

1. Ашмарин И.П., Васильев Н.Н., Амбросов В.А. Быстрые методы статистической обработки и планирования экспериментов. – Л., 1975. – С. 28–30.
2. Венцел В.П. Внутрибольничные инфекции. – М., 1990. – С. 259–267.
3. Гудкова Е.И., Красильников А.П. Распространение устойчивых к дезинфектантам вариантов среди *Pseudomonas spp* // Гигиена и санитария. – 1993. – № 8. – С. 62–65.
4. Гудкова Е.И., Красильников А.П. Методика определения и показатели чувствительности (устойчивости) бактерий к дезинфектантам // Клиническая лабораторная диагностика. – 1994. – № 6. – С. 48–50.
5. Крюкова Т.П. Микробиологический мониторинг и эпидемиологический надзор за внутрибольничными инфекциями в стационарах Краснооктябрьского района г. Волгоград: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Волгоград, 2005. – 23 с.
6. Манграм А. Дж., Хоран Т.К., Пирсон М.Л. и др. Профилактика инфекций в области хирургического вмешательства // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2003. – Т. 5. – № 1. – С. 74–101.
7. Метод по ускоренному определению устойчивости бактерий к дезинфекционным средствам: Методические рекомендации. – Утверждены МЗ РФ за № 1100–26–0–117 от 10.01.2000 г.
8. Питательная среда для санитарно-бактериологических исследований лактозо-желточный агар: Удостоверение на рационализаторское предложение. – Утверждено ГОУВ-ПО СПбГМА им. И.И. Мечникова за № 1751 от 16.06.2006 г.
9. Яфаев Р.Х., Зуева Л.П. Эпидемиология внутрибольничной инфекции. – М., 1989. – С. 110–122.
10. Krasilnikov A.P., Adarchenko A.A., Gudkova E.I. Klinische Bedeutung der Empfindlichkeit nosokomialer bakteriellen Krankenhfuserreger gegen Antiseptika // Klinische Antiseptik. – Berlin, 1992. – Bd 21. – S. 401–404.

© А.М. Шабалов, В.П. Новикова, Д.А. Кузьмина,
М. А Суворова, А.Г. Бойцов, Е.А. Оришак, 2008
© A.M. Shabalov, V.P. Novikova, D.A. Kuzmina,
M. A Suvorova, A. G. Boitsov, E.A. Orishak, 2008

МИКРОБИОЦЕНОЗ ПОЛОСТИ РТА И ОСОБЕННОСТИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ РЕФЛЮКС-ЭЗОФАГИТА У ДЕТЕЙ

А.М. Шабалов, В.П. Новикова, Д.А. Кузьмина, М. А Суворова, А.Г. Бойцов, Е.А. Оришак

¹Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия,
Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия

³Новгородский государственный университет Ярослава Мудрого, Великий Новгород, Россия

⁴ООО «Научно-исследовательская лаборатория Диагностика», Санкт-Петербург, Россия

А.М. Шабалов¹, В.П. Новикова¹, Д.А. Кузьмина³, М. А Суворова⁴, Бойцов А. Г.², Е.А. Оришак². Микробиоценоз полости рта и особенности стоматологических проявлений рефлюкс-эзофагита у детей // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3. – С. 127–130.

¹Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации», 194100, Санкт-Петербург, Litovskaya str., 2, Тел. (812) 542-39-83, Тел. /факс: (812) 295-40-85, Эл. почта: spb@spma.ru

²Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУВПО СПб ГМА им. И.И. Мечникова Росздрава), 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47 Тел. (812) 543-96-09, факс: (812) 140-15-24 Эл. почта: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

³Новгородский государственный университет Ярослава Мудрого. 173003, г. Новгород, ул. Б. Санкт-Петербургская, 41, факс: (816 22) 2-04-57 Эл. почта: tel&lan. novsu. ac. ru

⁴ООО «Научно-исследовательская лаборатория Диагностика». 197022 Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 9/а, факс: (812) 234-94-80

Р е з ю м е : Описаны стоматологические проявления рефлюкс-эзофагита у детей и свойства энтерококков, выделяемые из ротовой полости только у больных с эзофагитом.

К л ю ч е в ы е с л о в а : рефлюкс-эзофагит, декомпенсированный кариес. Микробиоценоз полости рта, энтерококки.

Shabalov A.M.¹, Novikova V.P.¹, Kuzmina D.A.³, Suvorova M. A.⁴, Boitsov A. G.², Orishak E. A.² Microbiobioecenosis of an oral cavity and stomatology displays features at children reflux-esophagitis // Herald Mechnikov Saint Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3. – P. 127–130.

¹State Educational Establishment of Higher Professional Training «Sankt-Petersburg state pediatric Medical academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 194100, St.-Petersburg, Litovskaya str., 2, tel. (812) 542-39-83, tel. /fax: (812) 295-40-85, e-mail: spb@spma.ru

²State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

³Jaroslav Wise 's Novgorod state university. 173003, Novgorod, street Big Saint-Petersburg's, 41, fax: (816 22) 2-04-57 E-mail: tel&lan. novsu. ac. ru

⁴Open Company «SIL Diagnostics». 197022 St.-Petersburg, street of Academician Pavlova, 9/a, fax: (812) 234-94-80

S u m m a r y : Stomatologic displays a reflux-esophagitis at children and properties of enterococcus, allocated of a mouth only at patients with esophagitis are described.

K e y w o r d s : reflux-esophagitis, decompensated caries, oral cavities microbiobioecenosis, enterococcus.

В последние годы возрос интерес исследователей к изучению микрофлоры полости рта в норме и патологии. Показана непосредственная роль непатогенных, условно-патогенных и патогенных бактерий, вирусов, грибов и простейших в развитии заболеваний органов полости рта. [2, 6].

Активно изучается взаимосвязь стоматологических заболеваний и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) у пациентов разного возраста [3, 6, 7, 8, 9, 10]. По литературным данным частота встречаемости заболеваний полости рта при ГЭРБ колеблется от 5 до 69,4% [3, 7, 8]. Описаны поражение мягких тканей (красной каймы губ, слизистой оболочки полости

рта, языка, тканей пародонта) и твердых тканей зуба (нарушения эмали, кариес). Большинство авторов отдают ведущую роль в возникновении патологии полости рта при ГЭРБ воздействию соляной кислоты а также нарушениям физико-химических свойств слюны. [1, 4, 7, 8]. Поскольку слюна является главным регулятором общего количества микроорганизмов в полости рта [1], изменения ее физико-химических свойств в результате ГЭРБ могут способствовать дисбиозу в данном биотопе.

Однако в доступной нам литературе не удалось найти работ, касающихся механизмов нарушения микробиоценоза и адгезивных свойств бактерий в по-

лости рта при ГЭРБ. В отдельных работах анализировался микробный пейзаж дистальной части пищевода у больных с ГЭРБ. Выявлен микробиологический дисбаланс с превалированием микроорганизмов, продуцирующих различные ферменты патогенности: гемолизин (*S. Intermedius*, *S. sanguis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *S. warneri*, *Bacteroides* spp), лецитиназу (*Staphylococcus xylosus*), казеиназу, РНКазу, каталазу, а также наличие грибов рода *Candida albicans* с патогенными свойствами, выражающимися в способности образовывать ростковые трубки и повышенной адгезией к эпителиальным клеткам [5].

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я : изучить микробиоценоз полости рта и стоматологические проявления рефлюкс-эзофагита.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . На базе КДЦ № 2 обследовано 75 детей в возрасте от 6 до 17 лет: 36 больных с диагнозом рефлюкс-эзофагит на фоне хронического гастродуоденита (ХГД) (группа № 1), 24 больных с диагнозом хронический гастродуоденит (группа № 2) и 15 здоровых детей (группа № 3). Детям группы № 1 и № 2 проведено

стандартное гастроэнтерологическое обследование (ФЭГДС, реогастрография, УЗИ внутренних органов). Дети из группы № 3 никогда не предъявляли гастроэнтерологических жалоб, имели первую группу здоровья и обследовались на профилактическом стоматологическом приеме. Все дети осмотрены стоматологом с забором материала из зубодесневой борозды для бактериологического исследования на аэробную и анаэробную флору с идентификацией микроорганизмов с помощью тест-систем La Chema и оценкой их адгезивной способности к буккальному эпителию. Проводилось генотипирование выделенных штаммов энтерококков методом ПЦР с определением генов патогенности (*gelE*-ген, детерминирующий продукцию желатиназы, *asal*-ген, детерминирующий продукцию субстанции агрегации, *esp*-ген, детерминирующий продукцию внеклеточного поверхностного протеина, *srg*-ген сериновой протеазы).

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я . При стоматологическом осмотре детей в обследованных группах были получены следующие данные (табл. 1).

Таблица 1

Состояние полости рта при рефлюкс-эзофагите у детей

	Рефлюкс-эзофагит (n = 29)		ХГД (n = 23)		Здоровые (n = 15)	
	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%
Изменения слизистой оболочки полости рта						
Катаральный гингивит	10	27,7*	5	20,8	1	6,6*
Стоматит	3	8,3	0	0	0	0
Изменения твердых тканей зубов						
Системная гипоплазия эмали	7	19,4*	3	12,5	0	0*
Очаговая гипоплазия эмали	3	8,3	4	16,6	1	6,6
Отсутствие кариеса	10	27,7*	15	62,5	11	73,3*
Компенсированный кариес	8	22,2	4	16,6	2	13,3
Субкомпенсированный кариес	8	22,2	3	12,5	1	6,6
Декомпенсированный кариес	10	27,7*	2	8,3	1	6,6*

П р и м е ч а н и е . * $p < 0,05$

Как видно из данной таблицы, в группе № 1 по сравнению с группой № 3 частота катарального гингивита, системной гипоплазии эмали и декомпенсированного кариеса была достоверно выше. Отсутствие кариеса у детей в группе № 1 выявлялось достоверно реже, чем у детей группы № 2 и группы № 3.

Проведение бактериологического исследования материала из зубодесневой борозды позволило выделить следующие особенности микробиоценоза полости рта (табл. 2) при рефлюкс-эзофагите.

Как видно из таблицы 2, при проведении бактериологического исследования у детей группы № 1 по сравнению с группой № 2 и № 3 частота высева аэробных гр. + кокков и анаэробных гр. + палочек была выше. Особенностью данных представителей микрофлоры полости рта является их способность к жизне-

деятельности и устойчивости при более низких значениях pH.

Как видно из таблицы 3, нами выявлены особенности видового состава микробиоценоза полости рта у детей с рефлюкс-эзофагитом: снижение колонизации представителями нормальной микрофлоры полости рта *Neisseria species*, увеличение частоты условно-патогенных микроорганизмов *Enterococcus faecium*.

В связи с более высокой частотой высева энтерококков при рефлюкс-эзофагите несомненно представляет интерес вопрос о том, являются ли они патогенами или представителями нормальной флоры. С этой целью на базе НИЛ «Диагностика» выполнено генотипирование выделенных штаммов энтерококка с определением наиболее изученных генов патогенности (рис. 1).

Таблица 2

Состав микрофлоры полости рта в обследованных группах

	Рефлюкс-эзофагит (n = 29)		ХГД (n = 23)		Здоровые (n = 15)	
	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%
Аэробы и факультативные анаэробы						
Гр. + палочки	3	10,3	3	13	1	6,6
Гр. + кокки	23	79,3*	9	39,1*	5	33,3*
Гр. – палочки	3	10,3	0	0	0	0
Гр. – кокки	14	48,2	17	73,9	7	46,6
Анаэробы						
Гр. + палочки	18	62*	8	34,7*	7	46,6
Гр. + кокки	7	24,1	6	26	1	6,6
Гр. – палочки	1	3,4	0	0	0	0
Грибы	4	13,7	3	13	7	46,6

Примечание. * $p < 0,05$

Таблица 3

Частота высева бактерий из полости рта у обследованных детей

	Рефлюкс-эзофагит (n = 29)		ХГД (n = 23)		Здоровые (n = 15)	
	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%
Lactobacillus spp.	14	48,2	6	26	7	46,6
Neisseria spp.	2	6,8*	7	30,4	3	21,4*
S. aureus	4	13,7	0	0	0	0
Enterococcus faecium	6	22*	1	4,3	1	6,6*
S. epidermidis	4	13,7	1	4,3	1	6,6
S. parvulus	7	24	6	26	1	6,6
S. saprophitus	1	3,4	1	4,3	0	0
Clostr. ramosum	2	6,8	0	0	1	6,6
Clostr. sphenoides	0	0	2	8,6	2	13,3
N. lactamica	0	0	2	8,6	2	13,3
N. sicca	7	24,1	3	13	2	13,3

Примечание. * $p < 0,05$

Гены патогенности энтерококков были обнаружены при проведении ПЦР только у детей с рефлюкс-эзофагитом: у 40% детей – один ген, у 20% – два гена и у 20% – 3 гена патогенности. Отсутствие генов патогенности энтерококков имело место только у детей контрольной группы.

В свою очередь и адгезия к буккальному эпителию была выше у патогенных энтерококков в отличие от энтерококков без данных генов. Однако, не отмечено зависимости степени адгезии энтерококков от количества генов патогенности (рис. 2).

Таким образом, при проведении данного исследования были определены особенности состояния полости рта при рефлюкс-эзофагите у детей: чаще отмечалась системная гипоплазия эмали, декомпенсированный кариес, катаральный гингивит. По сравнению с данными Арифиллиной В.К., в работе которой оце-

нивалось состояние твердых тканей зубов у детей при ГЭРБ, в нашем исследовании частота кариеса, системной гипоплазии эмали оказалась выше. Полученные данные по частоте катарального гингивита практически согласуются с данными, полученными у взрослых пациентов с ГЭРБ [6, 8].

Нами были выделены особенности микробиоценоза полости рта при рефлюкс-эзофагите у детей: снижение колонизации представителями нормальной микрофлоры, колонизация ротовой полости микроорганизмами, устойчивыми к более низким значениям pH и условно-патогенной микрофлорой с высокими адгезивными свойствами.

Вывод

В терапевтический комплекс при рефлюкс-эзофагите у детей следует включать мероприятия по санации полости рта и нормализации её микробиоценоза.

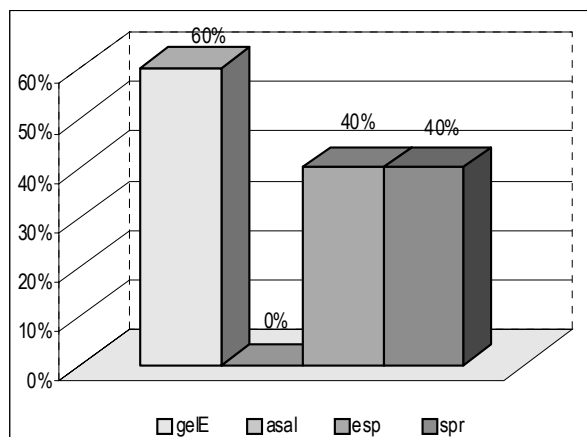


Рис. 1. Частота выявления генов патогенности энтерококков, выделенных у обследованных детей

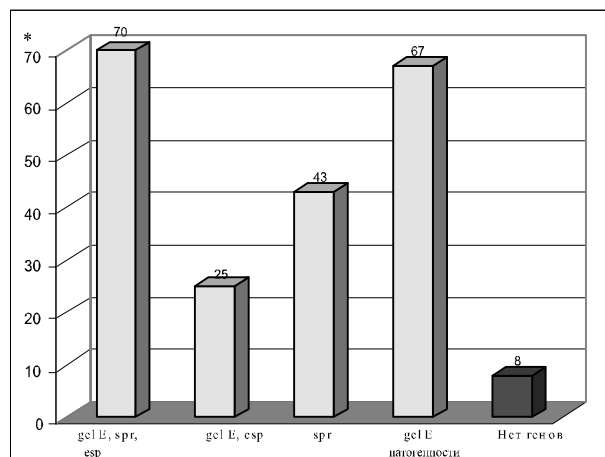
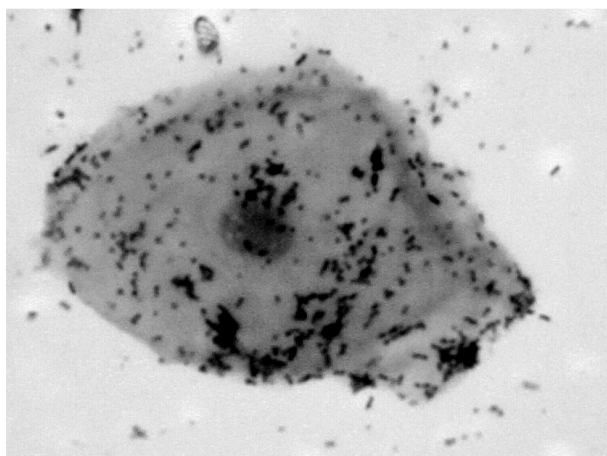
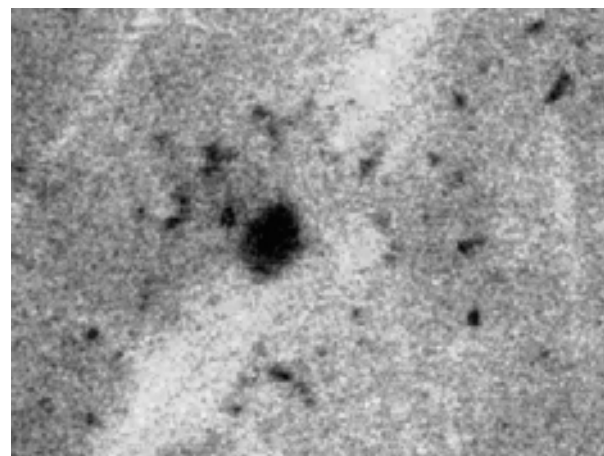


Рис. 2. Адгезивная способность выделенных энтерококков к буккальному эпителию

* – число энтерококков, адгезированных на одной клетки буккального эпителия



А. Высокая степень адгезии энтерококков к клетке буккального эпителия (окраска метиленовый-синий ув. ×900).



Б. Низкая степень адгезии энтерококков к клетке буккального эпителия (окраска метиленовый-синий ув. ×900)

Рис. 3. Адгезивная способность выделенных энтерококков к буккальному эпителию

Список литературы

1. Каргальцева Н.М. Ротовая полость – важный биотоп организма человека // Институт стоматологии, март 2001. – С. 20–21
2. Маев И.В., Барер Г.М. Стоматологические проявления гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // Клиническая медицина. – 2005. – № 11. – С. 33–38
3. Трифонов В.Д. Ионный состав слюны как показатель моторных нарушений в верхних отделах ЖКТ у детей // 10 Конгресс гастроэнтерологов России: Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей (Москва, 19–21 марта 2003 г. / Под общей редакцией акад. РАМН В.А. Таболина, – 2003. – С. 32–36.
4. Червинец В.М. Микрофлора воспалительно-эрозивных участков пищевода при эзофагитах // Журн. Микробиологии. – 2002. – № 2. – С. 74–75
5. Шабалов А.М., Новикова В.П., Кузьмина Д.А., Бойцов А.Г. Состояние полости рта при рефлюкс-эзофагите у детей // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – СПб., 2008. – № 2–3. – С. 450.
6. Шабалов А.М., Новикова В.П., Хомич М.М., Кузьмина Д.А. Внепищеводные проявления гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // Клинико-диагностические и организационные проблемы: Сборник научных трудов. (Областная детская клиническая больница, Санкт-Петербург, 2008). – СПб, 2008. – Т4. – С. 151–160.
7. Юренев Г.Л. Внепищеводные проявления гастроэзофагеальной рефлюксной болезни: Автореф. дис. д-ра мед. наук. – М., 2006. – 3–5 с.
8. Gregory-Head B.L., et al. Evaluation of dental erosion in patients with gastroesophageal reflux disease // Prosthet Dent. – 2000. – № 83. – Suppl. 6. – P. 675–680.
9. Meurman J.H., et al. Oral and dental manifestation of GERD // Oral Surg. – 1994. – 74. – P. 583–589.

© В.А. Бондарев, Т.А. Христенко, Е.С. Ясная,
Л.П. Даниленко, М.А. Малыгина, 2008
© V.A. Bondarev, T.A. Khristenko, E.S. Yasnaya,
L.P. Danilenko, M.A. Malykhina, 2008

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОЦЕНОЗА ЗУБНОГО НАЛЕТА У ДЕТЕЙ

В.А. Бондарев¹, Т.А. Христенко¹, Е.С. Ясная¹, Л.П. Даниленко¹, М.А. Малыгина²

¹Центр гигиены и эпидемиологии в Липецкой области, г. Липецк, Россия

²Городская детская стоматологическая поликлиника, г. Липецк, Россия

Бондарев В.А., Христенко Т.А., Ясная Е.С., Даниленко Л.П., Малыгина М.А. Сравнительная характеристика микробиоценоза зубного налета у детей // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 131–133.

¹ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Липецкой области», г. Липецк, Россия

²МУ «Городская детская стоматологическая поликлиника» г. Липецк, Россия

Резюме. Проводилось изучение и сравнительная характеристика качественной и количественной структуры микрофлоры зубного налета у стоматологически здоровых детей и детей, имеющих кариозное поражение разной интенсивности, в возрасте 7–8 лет. Для изучения биоценоза зубного налета использовались общепринятые микробиологические методы. В результате проведенного исследования нами было показано, что микрофлора зубного налета у детей всех обследованных групп практически не отличалась, за исключением присутствия грибов рода *Candida* в группе больных детей. Доминирующими микроорганизмами в обеих группах были *S. viridans* group и *Moraxella catarrhalis*. Количество микроорганизмов, обнаруженных в биотопе больных детей превышало таковое в группе здоровых. У больных детей в зубном налете чаще встречались многокомпонентные ассоциативные содружества.

Ключевые слова: микрофлора, биоценоз, зубной налет, кариес *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Moraxella* spp., микробиологическое исследование.

Bondarev V.A., Khristenko T.A., Yasnaya E.S., Danilenko L.P., Malykhina M.A. Comparative characteristics of microbiocenosis of dental deposit in children // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 131–133.

¹Federal State Establishment of Public Health Services «the Center of hygiene and epidemiology in Lipetsk region», Lipetsk, Russia

²Municipal establishment «the City children stomatological polyclinic» Lipetsk, Russia

S u m m a r y . Dental deposit microflora was studied and comparative analysis was made in healthy 7–8-year-old stomatological children and in children with caries of different intensity. Standard microbiological methods were used to study dental deposit biocenosis. Dental deposit microflora in all children examined was practically the same except *Candida* found in the affected children. Microorganisms of *S. «viridans»* group and *Moraxella catarrhalis* prevailed in both groups. The amount of microorganisms in the biotope of the affected children exceeded that in the healthy group. In dental deposit of the affected children multicomponent associative groups were common.

Ключевые слова: microflora, microbiocenosis, dental deposit, caries *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Moraxella* spp., microbiological methods.

Роль микроорганизмов, обитающих в ротовой полости далеко неоднозначна. С одной стороны, они участвуют в переваривании пищи в полости рта, в синтезе витаминов, оказывают большое позитивное влияние на иммунную систему человека, антагонистически воздействуют на патогенную флору. С другой стороны – продуцируют кислоты, чем оказывают разрушающее действие на твердые ткани зуба и являются одним из этиологических факторов кариеса. Кроме того, микробиологические агенты способны к инвазии с последующим развитием воспалительных заболеваний.

Состав микробной флоры данного биотопа неоднороден. В разных участках полости рта определяется различный как качественный, так и количественный состав организмов. По литературным данным основная масса микробов локализуется в зубном налете, в 1 мг сухой массы которого, содержится около $2,5 \times 10^8$ микробных клеток. Наибольшее количество микроорганизмов обнаруживается у шейки зуба, в промежутке между зубами и других участках полости рта, малодоступных обмыванию слюной.

Индивидуальные колебания в качественном и количественном составе микрофлоры полости рта зависят от возраста, диеты, гигиенических навыков, состояния местного иммунитета слизистой оболочки, наличия патологических процессов в зубах и деснах.

Целью работы явилось изучение и сравнительная характеристика качественной и количественной структуры микрофлоры зубного налета у детей.

Материал и методы исследования. В исследование был взят материал от 78 детей, в возрасте 7–8 лет, учащихся разных школ г. Липецка. Все они были распределены в три группы: стоматологически здоровые дети, дети со средним и высоким уровнем интенсивности кариесного процесса.

Забор и изучение зубного налета проводились общепринятыми микробиологическими методами. Биологическое типирование микроорганизмов осуществлялось согласно биохимическим свойствам микроорганизмов, представленных в определителе бактерий Берджи (1997 г). Анализ результатов исследования оценивался с помощью компьютерной программы «АРМ-бактериолога».

Таблица 1

Колонизация микроорганизмами зубного налета у стоматологически здоровых и детей имеющих кариес различной степени интенсивности

Микроорганизмы КОЕ /мг	Группы детей		
	Здоровые	Имеющие кариес	
		Средний уровень интенсивности	Высокий уровень интенсивности
<i>Streptococcus</i> spp.	$9,3 \cdot 10^5$	$1,16 \cdot 10^7$	$3,68 \cdot 10^6$
<i>Enterococcus</i> spp.	$4,02 \cdot 10^3$	$7,31 \cdot 10^3$	$1,56 \cdot 10^3$
<i>Moraxella</i> spp.	$1,37 \cdot 10^5$	$5,9 \cdot 10^5$	$2,09 \cdot 10^6$
<i>Staphylococcus</i> spp.	$1,53 \cdot 10^2$	$1,83 \cdot 10^2$	$2,25 \cdot 10^3$
Грибы рода <i>Candida</i>	-	$9,25 \cdot 10^2$	$2,78 \cdot 10^3$

Результаты исследования. Нами было установлено, что видовой состав микрофлоры у здоровых детей и детей, имеющих кариес, практически не отличается (табл. 1).

В зубном налете здоровых детей основная доля микроорганизмов представлена родом *Streptococcus* spp – 84,6%, у имеющих кариес – 94,9%. В 0,01% случаев микроорганизмы рода *Staphylococcus* spp высевались в обеих группах. Моракселлы составили 15% от всех микроорганизмов в первой обследуемой группе и 5% во второй. Энтерококки были изолированы в 0,36% и 0,07% соответственно. Грибы рода *Candida* были определены только у тех детей, которые страдали кариесом – 0,02% всей микрофлоры.

Анализируя частоту встречаемости микроорганизмов у всех детей (рис. 1), следует отметить, что микроорганизмы семейства стрептококков и рода моракселла обнаруживались в 100% случаев. Второе ранговое место занимали энтерококки (42,3%) случаев у 33 детей, третьи – грибы рода *Candida* (21,7%) случаев у 17 детей. Стафилококки выделены у 11 детей (14,1%).

Таким образом, значительный удельный вес (85%) и 100% частота встречаемости позволили отнести микроорганизмы семейства стрептококков к резидентной флоре зубного налета, как у здоровых, так и у имеющих кариес детей.

Биохимическое типирование доминирующих микроорганизмов показало, что группа *Streptococcus* spp. в 95% случаев была представлена *S. viridans* group. Остальные микроорганизмы данного рода обнаруживались менее, чем в 1,5% случаев и детальному анализу не подвергались. Среди энтерококков в 75%

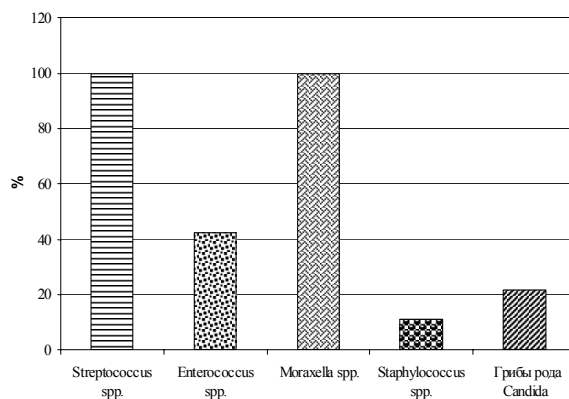


Рис. 1. Частота встречаемости микроорганизмов у обследуемых групп детей (%)

встречался вид *E. faecalis*. *Moraxella catarrhalis* была выявлена 86%, в остальных случаях микроорганизмы были отнесены к виду *M. lacunata*.

В количественном отношении состав микрофлоры разных групп оказался неодинаковым. Наибольшее количество микрофлоры определялось у детей, имеющих кариозное поражение зубов (табл. 2).

Анализируя данные представленные в таблице, было показано, что количество стрептококков в группе больных детей превышает в 12,5 раз количество этих микробов в группе здоровых. Эта же тенденция прослеживалась и по количеству других микроорганизмов: энтерококки – в 2,2 раза, моракселлы – в 5,8 раз, стафилококки – в 1,5 раз чаще обнаруживались в налете пораженных зубов. Таким образом, об-

Таблица 2

Количественный состав микрофлоры у стоматологически здоровых и имеющих кариес детей

Микроорганизмы КОЕ /мг	Группы детей	
	здоровые	с кариозным поражением
<i>Streptococcus</i> spp.	$9,3 \cdot 10^5$	$1,52 \cdot 10^7$
<i>Enterococcus</i> spp.	$4,02 \cdot 10^3$	$8,87 \cdot 10^3$
<i>Moraxella</i> spp.	$1,37 \cdot 10^5$	$7,99 \cdot 10^5$
<i>Staphylococcus</i> spp.	$1,53 \cdot 10^2$	$2,43 \cdot 10^3$
Грибы рода <i>Candida</i>	-	$3,71 \cdot 10^3$
Общее микробное число	$1,11 \cdot 10^6$	$1,61 \cdot 10^7$

щее микробное число в образцах от группы больных детей отличалось от группы здоровых в 14,5 раза.

Следует отметить, что в ходе бактериологического исследования нами обнаруживались микроорганизмы в ассоциативных содружествах. У здоровых детей в 86% случаев выделялись тройные микробные ассоциации. Как правило, ассоциации были представлены стрептококками, энтерококками и моракселлами, а в 14% случаев к ним присоединялись стафилококки. Двойные ассоциации в данной группе не регистрировались.

При средней степени интенсивности кариеса двойные ассоциации составили 45%, тройные – 35%, содружества из 4 микроорганизмов – 16%; из 5 микроорганизмов – 4%.

Высокая степень интенсивности кариеса характеризовалась наличием 39% двойных ассоциаций и со-

дружеств из четырех микроорганизмов. В 22% случаев наблюдались тройные ассоциации.

Таким образом, структурная организация ассоциаций в группе детей с кариесом не отличалась от таковой в группе здоровых.

З а к л ю ч е н и е . В результате проведенного исследования нами было показано, что микробиоценоз зубного налета у детей всех обследованных групп практически не отличался, за исключением присутствия грибов рода *Candida* в группе больных детей. Доминирующими микроорганизмами в обеих группах были *S. viridans* group и *Moraxella catarrhalis*. Количество микроорганизмов, обнаруженных в биотопе больных детей превышало таковое в группе здоровых от 1,5 до 14,5 раз. У больных детей в зубном налете чаще встречались многокомпонентные ассоциативные содружества.

© Ю.А. Чугунова, Т.А. Гречанинова, О.Н. Ластовка, А.Г. Бойцов, 2008

© J.A. Chugunova, T.A. Grechaninova, O.N. Lastovka, A.G. Boitsov, 2008

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФОТОПЛАЗМЕННОГО МЕТОДА ОЧИСТКИ ВОЗДУХА В МЕДИЦИНСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ

Ю.А. Чугунова, Т.А. Гречанинова, О.Н. Ластовка, А.Г. Бойцов

Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова,

Санкт-Петербург, Россия

Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге, Санкт-Петербург, Россия

Чугунова Ю.А., Гречанинова Т. А., Ластовка О.Н., Бойцов А.Г. Использование фотоплазменного метода очистки воздуха в медицинских учреждениях // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 133–135.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУВПО СПб ГМА им. И.И. Мечникова Росздрав), 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47 Тел. (812) 543-96-09, факс: (812) 140-15-24 Эл. почта: mechnik@westcall. net; www.mechnik.spb.ru

ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге»

Р е з ю м е : Показана целесообразность применения приборов для обеззараживания воздуха фотоплазменным методом в медицинских учреждениях, в частности в операционном блоке, бактериологической лаборатории.

К л ю ч е в ы е с л о в а : обеззараживание воздуха, фотоплазма

Chugunova J.A., Grechaninova T.A., Lastovka O.N., Boitsov A.G. Using photoplasm method of clean-up in medical institutions // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 133–135.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall. net; www.mechnik.spb.ru

FGUZ «Centre of hygiene and epidemiology in Saint--Petersburg»

S u m m a r y : It is advisable using of instruments for air disinfection by photoplasm method in medical institutions: operation-room, bacteriological laboratory.

K e y w o r d s : air disinfection, photoplasm.

Ц е л ь р а б о т ы : оценить целесообразность применения приборов для очистки воздуха с помощью фотоплазмы в медицинских учреждениях.

З а д а ч и и с с л е д о в а н и я

1. Оценить обеззараживающее действие фотоплазмы в условиях реальной эксплуатации в медицинском учреждении.

2. Дать оценку дезодорирующего действия фотоплазмы.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . В качестве источника фотоплазмы использовался прибор BioZone 1000 (Biozone Scientific International, USA). Устройства этого типа оснащены особой полихроматической лампой, спектр излучения которой в ультрафиолетовом диа-

пазоне от 100 до 300 нм. Этот спектр излучения обеспечивает эффективное фотокаталитическое окисление и образование холодной плазмы: в воздухе появляются возбужденные атомы и молекулы, ионизированные газы, радикалы и свободные электроны, обеспечивающие обеззараживающий эффект. Сложные органические молекулы, загрязняющие воздух, в частности являющиеся причиной неприятных запахов, разрушаются. Эксплуатация прибора разрешена в присутствии людей.

Отличительная особенность приборов серии BioZone заключается в том, что производимая ими холодная плазма действует не только в объеме прибора, но и вне него. Плазма вместе с очищенным воздухом поступает в помещение, где происходит основной процесс дезинфекции воздуха и поверхностей за счет воздействия на микроорганизмы сильнейших окислителей.

Испытания проведены в двух лечебных учреждениях Санкт-Петербурга, где прибор был установлен в помещениях различного назначения и разной площади. Уровень микробного загрязнения воздуха контролировали с помощью устройства автоматического отбора проб биологических аэрозолей воздуха ПУ-1Б (ЗАО «Химко», Москва). Отбор проб проводился в соответствии с инструкцией по эксплуатации. В помещениях бактериологической лаборатории пробы воздуха отбирались в динамике, с интервалами в 1 час после включения прибора в одной точке: в центре помещения.

В каждом помещении хирургического блока отбиралось по 5 проб воздуха по «конверту» (4 угла и

центр). Результат в последующем усреднялся. Расчет стандартной ошибки проводили по формуле 1:

$$m = 1,98\sqrt{N} \times V, \quad (1)$$

где N – число выросших на всех засеянных чашках колоний; V – засеянный объем воздуха в м^3 [1].

При определении общего микробного числа (ОМЧ) на чашку с питательным агаром засеивали $0,25 \text{ м}^3$ воздуха, – на желточно-солевой агар $0,25 \text{ м}^3$, плесеней и грибов – на среду Сабуро $0,25 \text{ м}^3$ воздуха. Дальнейшее исследование выполняли в соответствии с МУК 4.2.1089–02.

Оценка интенсивности запахов осуществлялась органолептически, путем опроса работающих в помещении.

Результаты исследования и их обсуждение. Согласно СанПиН 2.1.3.1375-03 [3] в боксах бактериологических лабораторий ОМЧ до начала работы не должно превышать 200 КОЕ/м^3 , а во время работы – 500 КОЕ/м^3 . В других помещениях лаборатории, предназначенных для проведения исследований, эти показатели соответственно составляют 500 и 750 КОЕ/м^3 . Кроме того, в 1 м^3 должны отсутствовать *S. aureus*. Также из воздуха не должны высеваться дрожжеподобные и плесневые грибы. В воздухе помещений выбранной для испытаний бактериологической лаборатории *S. aureus* и грибы не были обнаружены как до, так и после фотоплазменной обработки. Значения ОМЧ, полученные при испытании прибора Биозон представлены в таблице 1. Работа прибора обеспечила также исчезновение специфического запаха в помещении.

Таблица 1

Эффективность эксплуатации прибора BioZone 500 в помещении бактериологической лаборатории в процессе работы в присутствии людей

Назначение помещения	Объем помещения в м^3	Число работающих	ОМЧ КОЕ/м^3 при времени работы прибора (в часах)			
			0	1	2	3
Коридор	112	-	1104 ± 130	-	520 ± 89	360 ± 74
Комната для исследований 1	64	1	124 ± 43	-	152 ± 48	72 ± 33
Комната для исследований 2	58	2	156 ± 48	64 ± 31	36 ± 23	16 ± 15
Бокс для разлива сред	21	1	164 ± 50	56 ± 100	24 ± 19	8 ± 11

В помещениях операционной ОМЧ до начала работы не должно превышать 200 КОЕ/м^3 , а во время работы – 500 КОЕ/м^3 . В предоперационных, эти показатели соответственно составляют 500 и 750 КОЕ/м^3 . Кроме того, в 1 м^3 должны отсутствовать *S. aureus*. Из воздуха не должны высеваться дрожжеподобные и плесневые грибы. Результаты пробной эксплуатации прибора в операционном блоке представлены в таблице 2.

Как видно из представленных в таблице 2 данных в отличие от ультрафиолетового облучения, которое в 50% случаев не обеспечивало нормируемого уровня ОМЧ в воздухе, обработка фотоплазмой практически при всех режимах обеспечивала необходимый уро-

вень по данному показателю. Наиболее эффективной оказалась работа прибора в круглосуточном режиме.

S. aureus в пробах воздуха операционного блока не были обнаружены ни разу. Плесневые грибы из 120 проб воздуха, отобранных в операционном блоке при обеззараживании воздуха фотоплазмой, были обнаружены в 15 случаях. Их количество составляло от 2 до 6 в 1 м^3 . Следует отметить, что плесени присутствовали также и в пробах воздуха отобранных после обработки ультрафиолетом.

Заключение. Проблема микробного загрязнения воздуха медицинских учреждений актуальна для большинства стран мира. Около 10% внутрибольничных инфекций обусловлены аэрогенными

Таблица 2

Эффективность эксплуатации прибора BioZone 500 в помещениях операционного блока

Режим обработки воздуха	ОМЧ КОЕ/м ³ в воздухе			Момент отбора пробы
	предоперационная	операционная	автоклавная	
Ультра-фиолетовое облучение в течение ночи	678 ± 46	262 ± 29	316 ± 31	до работы
	452 ± 37	273 ± 29	337 ± 33	до работы
	> 1200	> 1200	> 1200	до работы
	> 1200	> 1200	> 1200	до работы
Фотоплазма в течение 6 часов	37 ± 11	44 ± 12	51 ± 12	после работы
	345 ± 33	252 ± 28	225 ± 27	до работы
	100 ± 18	138 ± 20	58 ± 14	после работы
	58 ± 13	78 ± 16	47 ± 12	после работы
Фотоплазма в течение ночи	605 ± 44	138 ± 20	291 ± 30	до работы
	493 ± 39	97 ± 18	206 ± 25	до работы
Фотоплазма кругло-суточно	270 ± 29	177 ± 24	274 ± 30	до работы
	199 ± 25	149 ± 22	251 ± 28	до работы

бактериями [4]. Наиболее надежным способом его предупреждение является оборудование систем вентиляции специальными устройствами обеззараживания воздуха, например «Поток 150-М-01» [2]. Однако это сопряжено со значительными материальными затратами. Широко распространенные в лечебных учреждениях устройства для обеззараживания воздуха ультрафиолетом имеют ряд принципиальных недостатков, что заставляет искать альтернативные пути решения проблемы. Одним из них является применение фотоплазмы. Опытная эксплуатация прибора Бизон 500 в условиях операционного блока и бактериологической лаборатории показали его эффективность как в отношении снижения общего количества бактерий, так и устранения запахов. Его несомненным достоинством является возможность эксплуатации в присутствии людей.

Список литературы

1. Бойцов А.Г., Ластовка О.Н., Порин А.А. Методы определения количества бактерий и статистической обработки результатов. – СПб, 2003.
2. МУК 4.2.1089–02. Использование установки обеззараживания воздуха «ПОТОК 150-М-01» и контроль микробной обсемененности воздуха при ее работе: Методические указания. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2002. – 22 с.
3. СанПиН 2.1.3.1375–03. «Гигиенические требования к размещению, устройству, оборудованию и эксплуатации больниц, родильных домов и других лечебных стационаров». – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 96 с.
4. Goffrè A., et al. The importance of the airborne microorganisms evaluation in the operating rooms: the biological risk for health care workers // Giornale Italiano Di Medicina Del Lavoro. 2007 Jul-Sep; 29 (3 Suppl) : 743–745.

© Б.Н. Левитан, А.Р. Умерова, А. В Дедов, Г.Б. Левитан, 2008

© B.N. Levitan, A.R. Umerova, A.V. Dedov, G.B. Levitan, 2008

АНТИТЕЛА К МИКРОБНЫМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДАМ КИШЕЧНОЙ ЭКОСИСТЕМЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ГЕПАТИТАХ И ЦИРРОЗАХ ПЕЧЕНИ

Б.Н. Левитан, А.Р. Умерова, А. В Дедов, Г.Б. Левитан
Государственная медицинская академия, Астрахань, Россия

Левитан Б.Н., Умерова А.Р., Дедов А.В., Левитан Г.Б. Антитела к микробным липополисахаридам кишечной экосистемы при хронических гепатитах и циррозах печени // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 135–138.

Астраханская государственная медицинская академия, 414000, Астрахань, ул. Бакинская 121, (8512) 28-90-68, bolev@mail.ru
Резюме. У 49 больных хроническим гепатитом и 60 – циррозом печени в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа определяли антитела к липополисахаридам *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Streptococcus* spp., *Bacteroides*, *Klebsiella pneumoniae* и суммарные антитела к гликолипиду хемотипа Re – антиэндоксинные антитела. Показано, что при хронической патологии печени наблюдается активация противомикробного гуморального иммунитета к мик-

роорганизмизм «коли- протейной ассоциации», и обоснована важная роль *E. coli* в развитии синдрома эндогенной интоксикации. Определение спектра противомикробных антител в сыворотке крови при хронических гепатитах и циррозах печени может быть использовано как для оценки состояния антимикробного, антиэндотоксического иммунитета, выраженности синдрома эндотоксемии, так и для характеристики тяжести заболевания, прогнозирования его течения.

К л ю ч е в ы е с л о в а : хронический гепатит, цирроз печени, антитела к микробным липополисахаридам, синдром эндотоксемии

Levitan B.N., Umerova A.R., Dedov A.V., Levitan G.B. Antibodies to microbic lypopolysaccharides of the gut ecosystem in chronic hepatitis and liver cirrhosis // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 135–138.

Astrakhan State Medical Academy, 414000, Astrakhan, Bakinskaya str. 121, (8512) 28-90-68, bolev@mail. ru

S u m m a r y . In 49 patients with chronic hepatitis and 60 patients with liver cirrhosis, antibodies to lypopolysaccharides of *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Streptococcus* spp., *Bacteroides*, *Klebsiella pneumoniae* and total antibodies to glycolipid of *Re haemotipe* – antiendotoxin antibodies were determined in blood serum by method of immune fermental analysis. It is shown, that at a chronic pathology of liver, there is an activation of antimicrobial humoral immunity to microorganisms of «coli-protei association», and important role of *E. coli* in development of syndrome of endogen intoxications is proved. Definition of antimicrobial antibodies spectrum in blood serum at chronic hepatitis and liver cirrhosis can be used as for estimation of antimicrobial, antiendotoxin immunity condition, expressiveness of endotoxaemia syndrome, and for the characteristic of disease severity, forecasting of its current.

К е y w o r d s : chronic hepatitis, liver cirrhosis, antibodies to microbic lypopolysaccharides, endotoxaemia syndrome

В организме человека постоянно происходят процессы антителообразования при контакте иммунной системы с чужеродными антигенами. Пищеварительная трубка, содержащая как антигены, поступающие с пищей, так и фрагменты многочисленных микроорганизмов кишечной экосистемы, является местом, где происходит контакт и сенсибилизация организма с образованием многочисленных видов антител. Противомикробные, а также антитела к компонентам пищи образуются и у здоровых лиц, но более интенсивно их синтез происходит при воспалительных заболеваниях кишечника, иной гастроэнтерологической патологии. Нарастание содержания сывороточных противомикробных антител (СПА) указывает на сенсибилизацию макроорганизма, являясь маркером состояния гуморального антимикробного иммунитета, а также отражает транслокацию микробных антигенов через кишечную стенку [1, 2, 4].

Вместе с тем, клиническое и патогенетическое значение СПА остается неясным. Имеются лишь отдельные сообщения об исследовании показателя СПА при хронических диффузных заболеваниях печени (ХДЗП) [3, 5]. С практической точки зрения требует изучения вопрос: является ли образование СПА «фоновым» процессом или они непосредственно включены в патогенез ХДЗП, учитывая сложность и многокомпонентность последнего.

Ц е л ь р а б о т ы – изучить возможные взаимосвязи между уровнями сывороточных антител к различным микроорганизмам кишечной экосистемы и клинико – биохимическими особенностями хронических гепатитов (ХГ) и циррозов печени (ЦП), оценить диагностическое значение СПА в практике гепатологии и терапии.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . Обследовано 109 больных ХДЗП (49 больных ХГ и 60 – ЦП) и 50 здоровых лиц, составивших группу контроля.

Состояние гуморального иммунного ответа к антигенам грамотрицательных микроорганизмов оценивали по содержанию антител к гликолипиду хемотипа Re, который входит в состав большинства грамотрицательных бактерий – антиэндотоксиновые ан-

титела (АЭА). Антитела определяли методом ИФА при помощи конъюгата протеина А с пероксидазой хрена на полистироловых планшетах, сенсибилизированных гликолипидом хемотипа Re из штамма *Salmonella minnessota* R595. Аналогично определяли антитела к липополисахаридам *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Streptococcus* spp., *Bacteroides*, *Klebsiella pneumoniae*. Использовались наборы для определения АЭА и СПА производства отдела иммунологии и биохимии Казанского НИИ эпидемиологии и микробиологии.

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я и х о б с у ж д е н и е . Установлено, что в сыворотке крови здоровых лиц постоянно присутствуют СПА к ведущим представителям кишечной микрофлоры (табл. 1). Это соответствует современным представлениям о физиологической системной эндотоксемии и антиэндотоксиновом иммунном ответе [4].

У больных ХГ и ЦП средние концентрации СПА к *Candida*, *Klebsiella*, *Bacteroides*, *Streptococcus*, а также микробному эндотоксину достоверно не отличались от показателей здоровых лиц. Вместе с тем, было выявлено достоверное, практически двукратное, по сравнению с контролем повышение величины СПА к *E. coli* (АКА) и *Proteus* spp (АПА). Причем превышающие норму уровни АКА и АПА были обнаружены у абсолютного большинства обследованных пациентов (около 90%). Антитела к эндотоксину (АЭА) превышали нормальные показатели в 57% случаев.

Высокие показатели СПА к *E. coli* и *Proteus* spp. указывают на возможное участие в патогенезе ХГ и ЦП «коли – протейной ассоциации», а роль других микроорганизмов представляется менее значимой. Отметим, что не обнаружена связь между уровнями АКА и АПА – корреляция между ними оказалась слабой и недостоверной ($r = 0,121$, $p = 0,120$). Это свидетельствует об относительной независимости показателей АКА и АПА. Каждая из изучаемых величин может иметь самостоятельное значение в патогенезе и свою диагностическую значимость при ХДЗП.

На уровень АКА при ХГ и ЦП практически не влияла активность процесса, степень компенсации

Таблица 1

Уровни антител к важнейшим представителям кишечной экосистемы в норме и при заболеваниях печени

Микро-организм	Контроль (мкг/мл)	ХГ (мкг/мл)	ЦП (мкг/мл)
Proteus	11,53 ± 0,56	21,96 ± 1,35*	23,81 ± 1,44*
Candida	24,7 ± 0,72	21,92 ± 1,26	22,31 ± 0,95
Klebsiella	24,9 ± 0,88	20,32 ± 1,11	22,43 ± 1,15
E. coli	14,1 ± 0,42	23,75 ± 1,28*	24,25 ± 0,87*
Bacteroides	14,4 ± 0,61	17,20 ± 0,98	17,16 ± 0,70
Streptococcus	13,5 ± 0,56	12,69 ± 0,74	12,33 ± 0,45
Эндотоксин	8,0 ± 0,38	7,70 ± 0,41	9,10 ± 0,54

П р и м е ч а н и е . * – $p < 0,05$ - по отношению к контролю

ЦП. При сопоставлении концентрации АКА с классом тяжести ЦП по Чайлду было показано, что на стадии ЦП «А» она составила $25,10 \pm 0,93$ мкг/мл, «В»- $25,95 \pm 1,95$ мкг/мл, «С»- $24,63 \pm 1,40$ мкг/мл. Это говорит об «универсальности» вовлечения АКА в патогенез ЦП и о сохранении напряжения антиэндотоксинового иммунитета даже на стадии декомпенсации ЦП.

При ХГ концентрация АКА была связана с этиологией и была достоверно выше при вирусных процессах, по сравнению с алкогольными. Для ЦП были характерны аналогичные закономерности.

Возраст умеренно влиял на величину АКА при ХГ (у молодых содержание АКА на 26,94% превышало уровень АКА у лиц пожилого возраста). Влияние фактора пола было несущественным.

Изучение АПА при ХГ и ЦП показало отсутствие связи их содержания с этиологией, возрастом и полом.

Концентрация АКА при ХГ и ЦП достоверно коррелировала с уровнем тимоловой пробы, общего белка, сывороточным альбумином, альбумин-глобулиновым индексом, что указывает на связь АКА с нарушением белково-синтетической функции печени и диспротеинемией, а также большей склонностью к развитию периферических отеков, связанных с гипоальбуминемией.

Установлена достоверная корреляция АКА с уровнем циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) при ХГ и ЦП ($r = 0,388$, $p < 0,05$ для ХГ, а для ЦП $r = 0,549$, $p < 0,01$). Данный факт указывает на участие антител к *E. coli* в иммунокомплексных расстройствах при ХДЗП, обычно рассматриваемых в рамках мезенхимально – воспалительного синдрома. Об этом свидетельствует и близкая к достоверной ($p = 0,063$) ассоциация АКА с наличием спленомегалии ($r = 0,297$), а также с синдромом гиперспленизма. Как известно, селезенка является важным иммунным органом, участвующим в синтезе антител. В тоже время величина АПА при ХГ и ЦП мало зависела от уровня ЦИК.

У больных ХГ и ЦП выявлены достоверные прямые корреляции АКА с уровнем АЭА, наиболее выраженные при ХГ ($r = 0,588$, $p < 0,01$).

Этому соответствуют выявленные тенденции к большей частоте клинически значимой астении, желтухи и другие проявления эндогенной интоксикации. Так, при повышении уровня АКА кожный зуд встречался на 54,2% чаще, чем при низких АКА, а желтушность кожи – на 22,6%. *E. coli* может являться основным источником ЛПС- эндотоксина при ХДЗП (и иных заболеваниях), а АКА – важным компонентом системы антимикробной и антиэндотоксиновой защиты, помимо собственно АЭА.

Отметим, что показатели АПА при ХГ и ЦП слабо коррелировали с концентрацией АЭА, а также с клиническими проявлениями, жалобами больных ЦП. Не оказывали влияния на концентрацию АПА активность процесса, уровни АЛТ, АСТ, тимоловой пробы, общего билирубина, щелочной фосфатазы, белка, альбумин-глобулиновый индекс.

Таким образом, результаты изучения АПА указывают скорее на отсутствие их связи с клиническими, биохимическими и инструментальными показателями при ХДЗП, что может свидетельствовать о незначительной роли липополисахарида *Proteus* в развитии синдрома эндотоксемии. В этом – существенное отличие АПА от АКА как диагностического показателя при данной патологии.

В дальнейшем, в зависимости от концентрации АКА в сыворотке крови все больные ХДЗП были разбиты на 2 подгруппы (P_1 и P_2). В подгруппе P_1 -АКА средний уровень антител был не выше, а у части пациентов даже ниже, чем у здоровых лиц. В подгруппе P_2 -АКА содержание СПА достоверно превышало норму.

В подгруппе P_1 -АКА значительно реже встречались вирусные поражения печени, в частности, по частоте HCV различия были более, чем четырехкратными. При сравнении клинко – биохимической активности в подгруппах P_1 и P_2 показатели цитолиза отличались в минимальной степени, тогда как высокими были различия по уровню общего билирубина и щелочной фосфатазы.

Это свидетельствует, что при нарастании уровня АКА у больных ХДЗП более часто наблюдаются синдромы желтухи и холестаза. И действительно, в клинической картине у данных больных (P_2 -АКА) имелась повышенная частота кожного зуда, характерного для холестаза (различия на 54,2%); желтушность кожных покровов и слизистых встречалась в подгруппе P_2 -АКА на 22,6% чаще, чем в P_1 . Отметим также достоверно более высокие показатели диспротеинемии, отечно- асцитического синдрома в подгруппе P_2 -АКА.

Было установлено статистически достоверное повышение уровней антител и к ряду других микробных антигенов в подгруппе P_2 -АКА по сравнению с P_1 -АКА (табл. 2). Это указывает на напряженность гуморального антимикробного иммунного ответа у пациентов с высоким содержанием АКА. При этом наибольший интерес представляет наличие достоверных ($p < 0,05$) различий между подгруппами P_1 -АКА и P_2 -АКА по уровню АЭА, что косвенно указывает на

Таблица 2

Антитела к основным представителям кишечной экосистемы у больных ХДЗП в зависимости от уровня АКА

Микроорганизм	Подгруппа П ₁ (мкг/мл)	Подгруппа П ₂ (мкг/мл)
Candida	19,8 ± 1,5	22,6 ± 0,7
Proteus	16,3 ± 1,5	24,6 ± 0,9*
Streptococcus	10,7 ± 0,6	12,9 ± 0,4*
Klebsiella	15,5 ± 1,4	22,7 ± 0,8*
Bacteroides	15,5 ± 1,0	17,3 ± 0,5
E. coli	14,1 ± 0,8	25,5 ± 0,6*
Эндотоксин	6,8 ± 1,0	11,3 ± 1,6*

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с П₁

более высокую степень эндотоксемии у лиц с повышенной концентрацией АКА в сыворотке крови.

Определенный интерес представляют параметры свертывающей системы (фибриноген, протромбин, продукты деградации фибриногена, уровень тромбодитов). Были выявлены тенденции, указывающие на большую вероятность развития геморрагического синдрома у больных ХДЗП с высоким уровнем АКА, что и наблюдалось в клинике (носовые и десневые кровотечения).

Суммируя вышеизложенное, можно сделать заключение, что концентрация АКА коррелирует со многими клиническими и биохимическими параметрами при ХДЗП. При этом, чем выше уровень АКА, тем более тяжелым является течение ХДЗП с точки зрения как клинических, так и биохимических параметров. Заметно нарастает содержание в крови ЦИК. Прямо противоположная картина наблюдается в отношении низких показателей АКА, которые ассоциируются с минимальной активностью ХГ и ЦП, отсутствием желтухи, холестаза, а также практически нормальными лабораторными, биохимическими и иммунологическими показателями.

Таким образом, с точки зрения диагностики, определение спектра противомикробных антител в сыворотке крови при ХГ и ЦП может быть использовано как дополнительный критерий для оценки состояния антиэндотоксинового иммунитета, выраженности синдрома эндотоксемии, так и для характеристики тяжести заболевания, прогнозирования его течения. При этом, как следует из установленных нами фактов, исследование всего спектра СПА является нецелесообразным. Наиболее диагностически значимым параметром при ХДЗП следует признать АКА. Необходимо подчеркнуть важность количественного определения АКА, так как клинко-диагностическое и про-

гностическое значение имеет обнаружение и высоких, и низких показателей. Параллельно для уточнения выраженности синдрома эндотоксемии целесообразно также проводить исследование уровня АЭА в сыворотке крови.

Выводы

Концентрации сывороточных противомикробных антител к *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Klebsiella*, *Candida* при ХДЗП достоверно не отличаются от показателей у здоровых лиц. Содержание антител к *E. coli* и *Proteus* повышено у абсолютного большинства больных ХГ и ЦП, что позволяет говорить о «коли-протейной ассоциации».

Нормальная и низкая концентрация АКА ассоциирована с низкой активностью ХГ и ЦП, близкими к норме клиническими (отсутствие желтухи, холестаза и т. п.), а также лабораторными, биохимическими и иммунологическими показателями. Высокая концентрация АКА ассоциируется с вирусной этиологией, высокой активностью ХГ и ЦП, повышением ряда клинко-биохимических параметров.

E. coli может быть ведущим источником эндотоксемии при ХДЗП. Уровень АКА достоверно ($p < 0,05$) коррелирует с уровнем АЭА ($r = 0,588$). Повышенные уровни АКА ассоциированы с клиническими проявлениями эндогенной интоксикации. Уровень АПА является в большей степени отражением неспецифической активации гуморального иммунного ответа при ХГ и ЦП.

У больных ХГ и ЦП с повышенной концентрацией АКА имеется достоверное нарастание уровня ЦИК, что свидетельствует о наличии единых пусковых механизмов нарушений антимикробного иммунного ответа и иммунокомплексной патологии.

Список литературы

1. Аниховская И.А. Выявление групп риска, выбор тактики обследования и оценка эффективности лечения различных заболеваний по показателям антиэндотоксинового иммунитета: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М, 2001. – 18 с.
2. Лиходед В.Г., Яковлев М. Ю, Мосежний А.И. Антиэндотоксиновый иммунитет в физиологии и патологии // Медицина экстремальных ситуаций. – 1999. – № 1. – С. 22–26
3. Созинов А.В., Аниховская И.А., Еналеева Д. Ш и др. Функциональная активность факторов связывающих эндотоксин, при хронических вирусных гепатитах В и С // Журн. микробиологии. – 2001. – № 6. – С. 56–59.
4. Яковлев М.Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека // Физиология человека. – 2003. – Т. 29. – № 4. – С. 98–109.
5. Levitan B., Umerova A., Levitan G. Tumor necrosis factor-alpha, antimicrobial and antiendotoxin antibodies in chronic hepatitis and liver cirrhosis viral origin / Falk Symposium 157: Chronic Hepatitis: Metabolic, Cholestatic, Viral and Autoimmune. – 2006. – Friburg (Germany)

© В.Х. Хавинсон, В.В. Малинин, 2008
© V. Kh. Khavinson, V.V. Malinin, 2008

ВЛИЯНИЕ КОРОТКИХ ПЕПТИДОВ НА ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ СТАРЕНИИ

В.Х. Хавинсон, В.В. Малинин

*Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии Северо-Западного отделения
Российской академии медицинских наук, Санкт-Петербург, Россия*

Хавинсон В.Х., Малинин В.В. Влияние коротких пептидов на иммунопатологические процессы при старении // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 139–142.

Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук, Россия, 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3, тел. 8-812-230-00-49.

Р е з ю м е : В работе опубликованы результаты экспериментального и клинического изучения коротких пептидов. Основное внимание уделено рассмотрению механизмов геропротекторного действия коротких пептидов. Изложены современные представления о механизмах тимомиметической регуляции межклеточных взаимодействий. Представлены данные, свидетельствующие о важной физиологической роли коротких пептидов в регуляции возрастных гормонально-метаболических и иммунологических нарушений. Установлены механизмы геропротекторного действия пептидов, связанные с регуляцией экспрессии генов, активацией хроматина, увеличением ферментативной активности теломеразы и удлинением теломера в различных клетках. Приведены данные о взаимодействии коротких пептидов с ДНК – ключевого момента инициации биологической активности пептидов. Изложены современные представления о биологической роли коротких пептидов в организме человека и животных, заключающейся в поддержании генетической стабильности, направленной на увеличение продолжительности жизни до видового предела.

К л ю ч е в ы е с л о в а : старение, короткие пептиды, иммунопатологические процессы

Khavinson V. Kh., Malinin V.V. Effect of small peptides on immunopathologic processes in ageing // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 139–142.

Saint Petersburg Institute of bioregulation and gerontology of the North-Western branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Saint Petersburg, Russia, Dinamo str., 3, phone: 8-812-230-00-49.

S u m m a r y : The survey highlights the results of the experimental and clinical studies of small peptides. Much attention is paid to the mechanisms of small peptides geroprotective activity. There is expounded a modern concept of the thymomimetic regulation of intercellular interaction. The data presented evidence a significant physiologic role of small peptides for regulation of age-related hormonal- metabolic and immunologic disorders. There have been found out the mechanisms of geroprotective activity of peptides related to the regulation of gene expression, chromatin activation, enhancement of enzymatic activity of telomerase and elongation of telomeres in different cells. The paper contains data on interaction of small peptides and the DNA – a key factor of initiation of peptide biologic activity. Alongside with this we provide novel concepts of the biologic role of small peptides for the human and animal organism, consisting in maintaining genetic stability aimed at the increase in the lifespan up to a specific limit.

K e y w o r d s : the ageing, small peptides, immunopathologic processes

Изучение взаимосвязи механизмов иммунобиологической резистентности и старения организма человека сохраняет свою актуальность на протяжении многовековой истории науки.

Ведущими направлениями исследований в области современной иммуногеронтологии являются изучение иммунологических механизмов старения, разработка новых лекарственных препаратов на основе пептидов, экспериментальное и клиническое изучение геропротекторного действия пептидных биорегуляторов, внедрение методов биорегулирующей терапии в медицинскую практику. Большое внимание уделяется изучению механизмов действия коротких пептидов при стресс-индуцированных иммунодефицитных состояниях, раневой инфекции, преждевременном старении и возрастной патологии.

В настоящее время жизнедеятельность человека осуществляется в условиях возрастания интенсивности и продолжительности действия неблагоприятных физико-химических и информационно-семантических факторов среды. Выполнение в этих условиях задач профессиональной деятельности, особенно связанных с физическими и нервно-эмоциональными нагрузками, может привести к предельному напряже-

нию компенсаторно-приспособительных механизмов с последующим развитием необратимых явлений дезадаптации и преждевременного старения. Реакция организма на стресс сопровождается угнетением функциональной активности различных систем организма, а истощение адаптационных механизмов ведет к структурным нарушениям. Важную роль в этих процессах играет иммунная система, изменения в которой возникают уже на ранних стадиях адаптивных реакций при экстремальных воздействиях. В стадии истощения формируется симптомокомплекс, квалифицируемый, как вторичное иммунодефицитное состояние, являющееся, в свою очередь, одной из этиологических причин развития иммунозависимых заболеваний. Патологические нарушения в системе иммунитета способствуют, как правило, затяжному течению основного заболевания со склонностью к рецидивам, снижению сопротивляемости организма к инфекции, развитию тяжелых осложнений и активации процесса старения организма [7, 8, 9].

Старение характеризуется сложным комплексом молекулярно-генетических и биохимических изменений, сопровождающихся дезорганизацией пептидергической системы регуляции функций организма [10].

Морфо-функциональным эквивалентом старения является инволюция органов и тканей, и прежде всего, тех, которые относятся к основным регуляторным системам – нервной, эндокринной и иммунной [4, 6]. Изучение процессов возрастной инволюции органов и тканей организма выявило снижение продукции в них физиологически активных веществ пептидной природы и интенсивности синтеза белка, что позволило сделать вывод о важной роли пептидов в регуляции механизмов старения. Система пептидов рассматривается в качестве универсальной при нейроиммунноэндокринных взаимодействиях [3]. Наряду с этим, пептидная регуляция физиологических функций организма осуществляется при участии тканеспецифических пептидов, поддерживающих клеточный гомеостаз.

Исходя из установленной тесной взаимосвязи функций иммунной системы с процессом старения, большое значение приобретают разработка и изучение средств для коррекции стресс-индуцированных иммунодефицитных состояний и профилактики преждевременного старения.

Современный период развития медицины характеризуется значительными достижениями в области создания лекарственных препаратов на основе пептидов, изучением их клинической эффективности и обоснованием целесообразности применения в комплексной терапии различных заболеваний и патологических состояний. Находят все большее применение при вторичных иммунодефицитных состояниях такие отечественные пептидные препараты, как тималин, тимоген, тактивин, тимоптин, виллозен, миелопид, имунофан и др.

Нами предложена концепция пептидной тимомиметической регуляции защитных и восстановительных функций организма, основу которой составляют короткие пептиды, участвующие в процессах пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов, позволяющая разрабатывать новые подходы к созданию пептидных лекарственных препаратов, обладающих тимомиметическим и иммуномодулирующим действием [5]. Установлено, что природные и синтетические пептидные тимомиметики (тималин, тимоген, вилон) играют важную роль в регуляции клеточного иммунитета, процессов воспаления и регенерации. Важное теоретическое и практическое значение имеют результаты, на основании которых выдвинуто предположение, что источником образования пептидных тимомиметиков является как тимус, так и другие клетки, продуцирующие такие пептиды в ходе ограниченного протеолиза из белков-предшественников (цитокинов, ростовых и тимусных факторов, иммуноглобулинов и других белков) в непосредственной близости от рецепторов Т-лимфоцитов, что позволяет организму осуществлять тимомиметическую регуляцию в поврежденных тканях вне прямой зависимости от функции тимуса. Установлено, что короткие пептиды повышают жизнеспособность коммитированных клеток лимфоидного ряда, стимулируют про-

лиферативную активность Т-лимфоцитов и усиливают экспрессию сигнальных факторов дифференцировки тимусных эпителиальных клеток – протеинов Рax1, Ноха3 и TLR, синтез которых достоверно снижается в стареющих культурах. Подобный подход свидетельствует в пользу идеи о существовании в организме универсальной системы биорегуляции, действующей основой которой являются тканеспецифические олигопептиды, осуществляющие селективную передачу информации при взаимодействии клеток иммунной, нервной и других систем, направленную на поддержание клеточного гомеостаза.

В настоящее время дано патофизиологическое обоснование целесообразности использования пептидных тимомиметиков в качестве фармакологических средств при тимусзависимой иммунологической недостаточности и снижении резистентности организма. Применение пептидных препаратов, обладающих тимомиметическим и иммуномодулирующим действием, с целью коррекции иммунологических нарушений при воздействии экстремальных факторов внешней среды свидетельствует о высокой клинико-иммунологической эффективности этих лекарственных средств. Короткие пептиды стимулируют процессы регенерации тканей, способствуют восстановлению клеточного метаболизма в лимфоцитах, макрофагах и фибробластах, нормализуют проницаемость сосудов, активируют неоангиогенез, уменьшают проявления воспалительной реакции, ускоряют заживление ран. Очевидно, что пептидные препараты целесообразно использовать в комплексе реабилитационных мероприятий после экстремальных воздействий для профилактики преждевременного старения, повышения защитных функций и адаптационных возможностей организма человека.

Исходя из физиологического значения пептидов в регуляции процесса старения, перспективными является разработка и изучение геропротекторных средств пептидной природы. Проблема разработки эффективных геропротекторных средств становится все более актуальной в связи с расширением диапазона неблагоприятных воздействий на организм человека и преждевременным развитием возрастной патологии. Особенности адаптационных перестроек при воздействии факторов, вызывающих преждевременное старение, заключаются в том, что они формируются на фоне возрастных изменений нейрогуморальной регуляции и снижения синтеза тканеспецифических белков; в конечном счете это приводит к снижению резервных возможностей организма, кумуляции продуктов катаболизма, прогрессированию деструктивных процессов, нарушению функций клеток и развитию заболеваний. Несмотря на разнообразие теорий старения, имеется логическая взаимосвязь между действием всех установленных факторов, поэтапно запускающих генетическую программу клеточной дегенерации. Ведущая роль в этом принадлежит изменению уровня экспрессии различных генов, осуществ-

вляющих регуляцию процессов пролиферации, дифференцировки и гибели клеток.

Принципиально важным в развитии представлений о механизмах геропротекторного действия пептидов является исследование структурно-функциональных особенностей этих веществ. На основании анализа аминокислотного состава природных полипептидных препаратов было синтезировано несколько пептидов, обладающих геропротекторными свойствами. Сравнительное изучение биологической активности полипептидных препаратов и синтетических пептидов показало ряд сходных эффектов при их воздействии на различные органы и ткани организма в норме и патологии.

Необходимо отметить, что среди известных пептидов, обладающих геропротекторными свойствами, особое место занимает дипептид карнозин (β -Ala-His), открытый первым среди эндогенных веществ пептидной природы. Установлено, что геропротекторное действие карнозина связано преимущественно с антиоксидантной активностью пептида [1].

Учитывая ведущую роль в развитии старения и возрастной патологии функциональной активности пинеальной железы (эпифиза) большое число научных работ было посвящено изучению геропротекторного действия пептидов эпифиза. Установлено, что комплексные и синтетические пептиды эпифиза оказывают влияние на регуляцию секреторных процессов в железе. Введение пептидов эпифиза крысам при стрессе вызывало достоверное повышение содержания белка C-Fos в пинеалоцитах животных, что во многом обуславливает иммуномодулирующие, онкомодифицирующие и стресспротекторные свойства этих веществ. Применение пептидов эпифиза у мышей и крыс в различных экспериментальных моделях преждевременного старения сопровождалось повышением продукции мелатонина. Исследованы возможности коррекции возрастных эндокринопатий с помощью пептидов эпифиза в эксперименте на лабораторных приматах (*Macaca mulatta*). Пептиды эпифиза вызывали восстановление секреции мелатонина у старых индивидов. Одновременно с этим происходило и восстановление циркадианного ритма секреции кортикостероидов в базальных условиях, а также в условиях острого психоэмоционального стресса. На фоне применения исследуемых пептидов восстанавливалась чувствительность периферических тканей к инсулину и островкового аппарата поджелудочной железы к глюкозе [2].

Адаптогенное и геропротекторное действие пептидов связано с их воздействием на механизмы гормональной регуляции и антиоксидантной защиты. Введение пептидов тимуса и эпифиза мышам и крысам различных линий способствовало достоверному увеличению средней продолжительности жизни на 30–40% и подавлению роста спонтанных, индуцированных и перевиваемых опухолей у животных по сравнению с контролем. При этом у животных отмечались восстановление уровня мелатонина, фермен-

тов антиоксидантной защиты и нормализация отдельных компонентов дыхательной цепи митохондрий. Пептиды обладают опиоидной активностью и оказывают модулирующее воздействие на содержание биогенных аминов (норадреналина, дофамина, 5-оксииндолуксусной кислоты, серотонина и гистамина) в коре головного мозга и сыворотке крови животных, воздействуя на центральные и периферические механизмы регуляции стресса и воспаления.

Установлено, что короткие пептиды оказывают регулирующее действие на активность ферментов желудочно-кишечного тракта при старении. Результаты изучения влияния коротких пептидов на активность пищеварительных ферментов старых крыс свидетельствуют о том, что улучшение деятельности ферментных систем тонкой кишки после применения пептидов, по-видимому, способствует лучшей ассимиляции пищи и нормализации функции пищеварения при старении.

В настоящее время классические данные о нормализующем влиянии пептидов на возрастные гормонально-метаболические и иммунологические изменения дополняются результатами, полученными при исследованиях действия пептидов на уровне генома [10].

Результаты экспериментальных исследований пептидов подтвердили предположение о том, что геропротекторное действие этих веществ преимущественно связано с регуляцией экспрессии генов и процесса биосинтеза, нарушающихся с возрастом. Установлено, что короткие пептиды тимоген (Glu-Trp), вилон (Lys-Glu), эпиталон (Ala-Glu-Asp-Gly), кортаген (Ala-Glu-Asp-Pro), ливаген (Lys-Glu-Asp-Ala) и простамакс (Lys-Glu-Asp-Pro) вызывают восстановление структуры ДНК и способствуют снижению частоты хромосомных aberrаций при радиационных, химических воздействиях и гипокинезии. Внесение пептидов в культуру лимфоцитов лиц старческого возраста приводило к деконденсации плотноупакованных фибрилл хроматина, что коррелирует с восстановлением экспрессии генов, репрессированных в результате конденсации эухроматиновых районов при старении.

Применение коротких пептидов у мышей вызывало изменение профиля генной экспрессии в миокарде и головном мозге животных. Введение пептидов трансгенным мышам способствовало подавлению в 2–4 раза экспрессии гена рака молочной железы HER-2/neu, что коррелировало с уменьшением размеров аденокарциномы. Короткие пептиды стимулируют экспрессию генов IL-2 и *c-fos* в лимфоцитах и различных структурах головного мозга. Обработка пептидом эпиталоном фибробластов человека способствовала индукции теломеразной активности и удлинению средней длины теломера в 2,5 раза по сравнению с контролем, что привело к увеличению на 42,5% числа делений клеток, т. е. преодолению лимита Хейфлика.

Изучение влияния пептидов на экспрессию различных генов и синтез ДНК в различных экспериментальных моделях позволило выдвинуть предположение, что короткие пептиды являются активаторами и

агонистами факторов транскрипции, причём первичным стартовым сигналом для связывания фактора транскрипции с промотером является комплементарное сайт-специфическое связывание пептида в большой канавке ДНК. Экспериментально установлено комплексообразование тетрапептида с двойной спиралью ДНК. Связывание пептида с двойной спиралью сопровождается гиперхромным эффектом, что свидетельствует о локальном разделении цепей двойной спирали, следствием чего является запуск механизма синтеза белка в клетках.

Создание лекарственных средств на основе пептидов позволило разработать и внедрить в клиническую медицину новую технологию коррекции генетической предрасположенности организма к возрастной патологии и восстановления функций клеток, утрачиваемых с возрастом – биорегулирующую терапию. В ее основе лежит комплексное применение с профилактической и лечебной целью пептидных регуляторов генетической стабильности и клеточного метаболизма, что приводит к нормализации основных физиологических функций, повышению адаптационных возможностей и замедлению процесса старения организма. Применение пептидных препаратов тимуса и эпифиза у пациентов пожилого и старческого возраста приводило к восстановлению уровня мелатонина, показателей антиоксидантной защиты, иммунной, эндокринной и сердечно-сосудистой систем, а также функций мозга, что сопровождалось снижением смертности у этих лиц в период 8–12-летнего изучения в 2 раза.

Полученные результаты дают основание заключить, что короткие пептиды относятся к новой группе клеточных транмиттеров, которые играют важную роль в регуляции иммунитета, воспаления, гистогенеза и регенерации. Расширение представлений о механизмах действия пептидов свидетельствует о перспективности применения этих веществ для профилактики преждевременного старения и возрастной патологии.

Список литературы

1. Болдырев А.А. Карнозин. Биологическое значение и возможности применения в медицине. – М.: Изд-во МГУ, 1998. – 320 с.
2. Гончарова Н.Д., Хавинсон В.Х., Лапин Б.А. Пинеальная железа и возрастная патология (механизмы и коррекция). – СПб.: Наука, 2007. – 168 с.
3. Иммунофизиология / Под ред. Е.А. Корневой. – СПб.: Наука, 1993. – 684 с.
4. Корнева Е.А., Шхинек Э.К. Гормоны и иммунная система. – Л.: Наука, 1988. – 248 с.
5. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В. Пептидные тимомиметики. – СПб.: Наука, 2000. – 158 с.
6. Петров Р.В., Хаитов Р.М. Иммунный ответ и старение // Успехи соврем. биологии. – 1975. – Т. 79, вып. 1. – С. 111–127.
7. Семенов В.Ф., Карандашов В.И., Ковальчук Л.В. Иммуногеронтология: Руководство для врачей. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 208 с.
8. Сепиашвили Р.И. Основы физиологии иммунной системы. – М.: Медицина-Здоровье, 2003. – 240 с.
9. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы. – М.: ВИНТИ РАН, 2005. – 428 с.
10. Khavinson V. Kh., Malinin V. V. Gerontological aspects of genome peptide regulation. – Basel: Karger, 2005. – 104 p.

УЧЕНИЕ И.И. МЕЧНИКОВА О СТАРЕНИИ И ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ ГЕРОНТОЛОГИИ

I.I. MECHNIKOV'S DOCTRINE ON AGEING AND THE PROBLEMS OF MODERN GERONTOLOGY

© К.А. Шемеровский, 2008
© K.A. Shemerovsky, 2008

КИШЕЧНЫЙ АСПЕКТ ЗДОРОВОГО СТАРЕНИЯ

К.А. Шемеровский

*Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины Российской академии
медицинских наук, Санкт-Петербург, Россия*

Шемеровский К.А. Кишечный аспект здорового старения // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 143–146.

Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова 12, тел.: 234-06-70, факс: 234-94-89, iem@iem.spb.ru

Р е з ю м е : Изучен риск запора и риск колоректального рака для лиц от 20 до 80 лет. Показано, что риск запора возникает на 10 лет раньше, чем риск рака толстой кишки. Максимальная встречаемость запора отмечена в 40–49 лет, а колоректального рака – в 70–80 лет. Максимум выявления органической патологии толстой кишки наблюдается почти на 30 лет позже, чем функциональной. Циркадианная регулярность кишечника является ритмом здорового старения, поскольку может способствовать профилактике запора и снижать риск возникновения колоректального рака.

К л ю ч е в ы е с л о в а : кишечник, регулярность, риск, старение, рак.

Shemerovsky K. A Intestinal aspect of healthy ageing // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 143–146.

Institute of Experimental Medicine RAMS, 197376, St. Petersburg, Academician Pavlov, 12, Russia; tel.: (812) 234-06-70, fax: (812) 234-94-89, iem@iem.spb.ru.

S u m m a r y : Risks of constipation and colorectal cancer were compare in persons from 20 to 80 years old. Functional col-orectal pathology begins about 10 years early than organic one. Maximal risk for functional constipation was diagnosed at age 40–49 y. o., but for colorectal cancer – at age 70–80 y. o.. Organic colorectal pathology have maximal incidence about 30 years later than functional one. Circadian bowel regularity is fundamental rhythm of healthy ageing because it can prevent the constipation as the colorectal cancer risk factor.

K e y w o r d s : intestine, regularity, bradyarrhythmia, ageing, cancer.

Проблемы здорового старения и роли кишечника в поддержании здоровья человека, поставленные И.И. Мечниковым в учении «Ортобиоз»[3], интенсивно разрабатываются современными геронтологами и гастроэнтерологами [1, 7, 8], изучающими закономерности питания, микробиоценоза и интеллекта человека, что может способствовать повышению качества жизни пожилых пациентов.

Термин «Ортобиоз» И.И. Мечников рассматривал как «правильную жизнь» или стремление и умение «жить правильно». В его теории старения главная роль отведена самоотравлению организма гнилостными бактериями кишечника. Для устранения эндо-

генной интоксикации и для профилактики преждевременного старения И.И. Мечников с позиций микробиологии предложил принимать кисломолочные продукты. Кишечный аспект здорового старения в данной работе рассмотрен с позиций современного направления в медицинской науке – с позиций хрономедицины.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – сравнение возрастной динамики (в диапазоне от 20 до 80 лет) двух видов риска: риска возникновения функциональных нарушений эвакуаторной функции кишечника и риска возникновения органического поражения кишечника в виде колоректального рака (который является

лидером онкологической заболеваемости населения Санкт-Петербурга в настоящее время).

Материал и методы исследования. Методом хроноэнтерографии – хронометрии циркадианного кишечного ритма – обследовано 2501 человек (20–80 лет) [9, 11]. Определяли временную фазовую структуру (частоту, регулярность и акрофазу) циркадианного ритма эвакуаторной функции кишечника. Регулярным – физиологически оптимальным – ритмом этой функции считали ее ежедневный ритм с частотой стула – 7 раз в неделю. Среди нерегулярного ритма этой функции выделяли 3 основные стадии: I стадия – компенсированная – при частоте стула 5–6 раз в неделю, II стадия – субкомпенсированная – при частоте стула 3–4 раза в неделю, III стадия – декомпенсированная – при частоте стула 1–2 раза в неделю. Методом анкетирования исследованы отдельные факторы, изменение которых влияет на регулярность эвакуаторной функции кишечника. Среди этих факторов: уровень удовлетворенности питанием, уровень двигательной активности, удовлетворенность режимом сна-бодрствования. В опросниках для ауторитмометрии обследуемые отмечали точный период времени (утро – 06: 00– 12: 00, день – 12: 00–18: 00, вечер 18: 00–24: 00) реализации ритма эвакуаторной функции кишечника. Проанализирована заболеваемость раком толстой кишки жителей Санкт-Петербурга того же возраста. Выделено по 6 групп среди здоровых и больных лиц: I – 20–29 лет, II – 30–

39 лет, III – 40–49 лет, IV – 50–59 лет, V – 60–69 лет, VI – 70–80 лет.

Результаты исследования и их обсуждение. Хронофизиологическое исследование временной фазовой структуры циркадианного ритма энтеральной эвакуаторной функции у 2501 работающего человека различного возраста позволило установить воспроизводимую хронофизиологическую закономерность: «Регулярность циркадианного ритма эвакуаторной функции кишечника закономерно зависит от своевременности акрофазы этого ритма». Оптимальная (утренняя) акрофаза энтерального ритма оказалась существенным механизмом его регулярности. У лиц с преимущественно утренней акрофазой эвакуаторной функции кишечника риск возникновения десинхроноза (рассогласования циркадианного ритма кишечника с циркадианным ритмом активности организма) минимизирован и составляет около 10%. У субъектов с привычным подавлением утренней фазы опорожнения кишечника и преимущественно вечерней дефекацией (сдвиг акрофазы вправо – как предиктор десинхроноза) риск констипации возрастал до 40%. Следовательно, своевременность акрофазы циркадианного ритма кишечника способствует понижению риска возникновения десинхроноза и колоректальной патологии почти в 4 раза. Связь между частотой и акрофазой ритма стула представлена в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1

Частота и акрофаза циркадианного ритма эвакуаторной функции кишечника у работающих лиц (n = 2501)

Частота ритма стула (раз в неделю)	Акрофаза ритма стула (момент реализации в течении суток)		Всего обследованных лиц
	Утренняя	Вечерняя	
7 (регулярный ритм)	1098	301	1399
1–6 (нерегулярный ритм)	435	667	1102
Всего	1533	968	2501

Утренняя фаза ритма стула доминирует при регулярном (ежедневном) ритме кишечника. Вечерняя фаза ритма стула преобладает при нерегулярном (неежедневном) функционировании кишечника. Чем раньше происходит дефекация, тем реже возникает констипация.

Регулярный ритм стула (7 раз в неделю) связан преимущественно с утренней фазой этого ритма, а нерегулярный (3 раза в неделю) – с вечерней акрофазой.

Регулярный ежедневный ритм кишечника (7 дней в неделю со стулом) имел место у 56% здоровых лиц (у 1399 из 2501), а у 44% здоровых лиц (у 1102 из 2501) диагностирован нерегулярный (неежедневный) ритм кишечника с частотой стула от 1 до 6 раз в неделю.

Первая стадия нерегулярности кишечника (при частоте стула 5–6 раз в неделю) была диагностирована у 27% лиц. Вторая стадия кишечной брадиаритмии (при частоте стула 3–4 раза в неделю) – была обнаружена у 13% обследованных лиц. Третья стадия бради-

аритмии кишечника (при частоте стула 1–2 раза в неделю) – диагностирована у 4% обследованных.

Наличие кишечной брадиаритмии для 6 выделенных возрастных групп здоровых лиц было следующим: I – 14%, II – 21%, III – 30%, IV – 25%, V – 7%, VI – 3% (рисунок 2).

Выраженное нарастание функциональной патологии толстой кишки в виде нарушения регулярности ритма стула было значимым (рост встречаемости брадиаритмии кишечника от 14% до 30%) в период от 20 до 49 лет.

У практически здоровых работающих лиц в период постепенного старения организма (от 50–59 лет до 70–79 лет) наблюдалось существенное снижение встречаемости функциональной патологии толстой кишки в виде брадиаритмии кишечника (с 25% до 3%).

Повозрастная встречаемость колоректального рака существенно отличалась от таковой при наличии



Рис. 1. Зависимость регулярности стула от акрофазы его реализации

брадиаритмии кишечника выраженным повышением уровня заболеваемости в диапазоне от 50 до 80 лет (рис. 3).

Для кишечной брадиаритмии было характерно достижение максимальных уровней встречаемости в период от 20 до 50 лет. Для колоректального рака максимальные уровни встречаемости приходились на период от 50 до 80 лет.

У считающих себя здоровыми работающих обследованных лиц пик функциональной патологии в виде брадиаритмии кишечника приходился на период 40–49 лет. Пик заболеваемости раком толстой кишки приходился на период 70–79 лет. Следовательно, максимальный уровень функциональной патологии (брадиаритмии кишечника) практически на 30 лет предшествовал максимальному уровню патологии органической (раку толстой кишки).

В связи с тем, что брадиаритмия кишечника (констипация или запор) является доказанным фактором риска возникновения рака толстой кишки (колоректального рака) [9, 10], фактором, повышающим риск возникновения карциномы более чем в 2 раза, следует полагать, что устранение функционального запора

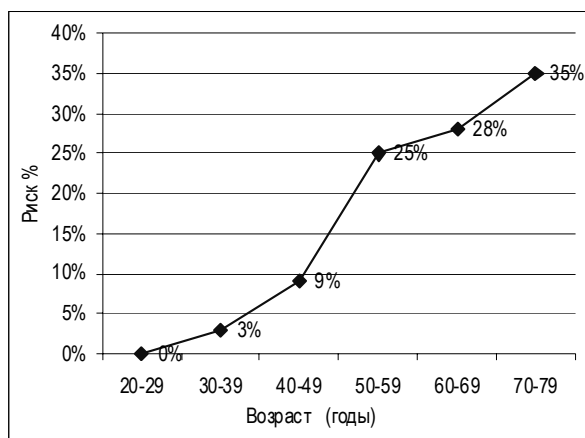


Рис. 3. Повозрастная встречаемость колоректального рака.

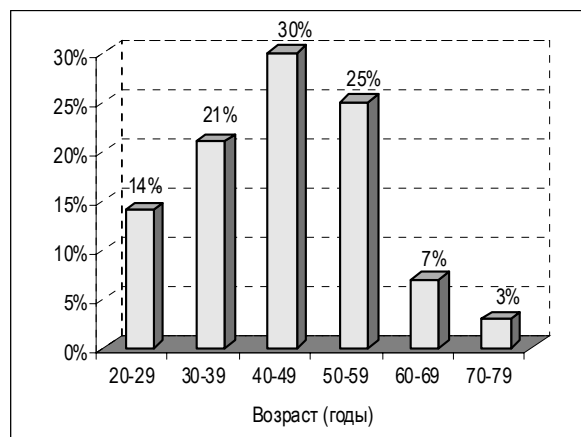


Рис. 2. Повозрастная встречаемость брадиаритмии кишечника (запора)

должно служить существенным фактором профилактики возникновения рака толстой кишки.

Для лечения пациентов с запором предложено множество средств (в Великобритании, где 50% населения принимают слабительные, синтезировано более 200 таких средств, а в США – более 700) [8], однако эффективность лечения слабительными не всегда высокая.

Лечение больных, страдающих запором, пробиотиками с молочнокислыми микроорганизмами восстанавливало ритм стула лишь у 50% лиц [2], или повышало частоту стула от 1–2 раз в неделю до 2–3 раз в неделю [4]. Применение пребиотиков у лиц с запором приводило к повышению его частоты лишь до 3–4 раз в неделю [6]. Одной из причин неадекватной эффективности таких средств, по-видимому, является отсутствие учета временной структуры циркадианного ритма эвакуаторной функции кишечника.

Российская гастроэнтерологическая ассоциация, исходя из принципов доказательной медицины и рациональной фармакотерапии, рекомендует одно из наиболее эффективных средств для нормализации ритма дефекации – Дульколакс [5]. Дульколакс стимулирует нервные окончания в слизистой оболочке толстой кишки, ускоряет перистальтику и повышает секрецию слизи в толстой кишке. Эффект Дульколакса в форме свечей наступает через 15–30 минут. Дульколакс устраняет гипотонические и резистентные хронические запоры у взрослых и у детей, показан у лежачих больных, для регулирования стула при геморрое, в предоперационной подготовке и в послеоперационном периоде. В плацебо-контролируемом исследовании показано, что это средство в свечах, устраняя послеоперационный парез кишечника, вызывало появление стула в 100% случаев, тогда как эффект плацебо составил 20% случаев [12].

Следует заключить, что здоровое старение, концепция которого была представлена И.И. Мечниковым в виде «Ортобиоза», предполагает синхронизацию между естественным окологлобальным ритмом (24 ± 4 часа) жизнедеятельности организма человека

и таким же циркадианным ритмом эвакуаторной функции кишечника. Важно отметить, что качество жизни лиц с регулярным ежеутренним ритмом этой функции почти на 20% выше, чем у субъектов с нерегулярным и неежедневным опорожнением кишечника [11].

Циркадианный ритм кишечника является ритмом здорового старения, так как соблюдение регулярности этого ритма может служить профилактикой возникновения запора и снижать риск инициации рака толстой кишки.

Список литературы

1. Лазебник Л.Б., Дроздов В.Н. Заболевания органов пищеварения у пожилых. М.: АНАХАРСИС, 2003. – 208 с.
2. Лоранская Т.И., Лебедева Р.П. Отчет о клинических испытаниях драже «Ламинолакт» // Пробиотики нового поколения. – Санкт-Петербург, 2003. – С. 59–63.
3. Мечников И.И. Этюды оптимизма. – М., 1987. – 328 с.
4. Парфенов А.И., Ручкина И.Н. Изучение клинической эффективности продукта питания Активиа Творожная у больных синдромом раздраженного кишечника с преобладанием запоров // Оценка эффективности пробиотических кисломолочных продуктов Активиа компании «Данон» в терапии заболеваний желудочно-кишечного тракта. – Москва, 2006. – С. 24–32.
5. Рациональная фармакотерапия заболеваний органов пищеварения: Руководство для практикующих врачей / Под ред. В.Т. Ивашкина. – М., 2003. – т. 4. – 1046 с.
6. Сидорова И.С., Данилова О.С. Оценка эффективности использования препарата Дюфалак для лечения запоров у беременных // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004, том 3. – № 2. – С. 2–3. On-line версия журнала.
7. Ткаченко Е.И., Успенский Ю.П. Питание, микробиоценоз и интеллект человека. – СПб.: СпецЛит, 2006. – 590 с.
8. Циммерман Я.С. Хронический запор. Диарея. – Пермь: ПГМА, 1999. – 114 с.
9. Шемеровский К.А. От доказательной фармакотерапии через хрономедицину к медицине профилактической // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2008. – № 1. – С. 29–35.
10. Шемеровский К. А Запор – фактор риска колоректального рака // Клиническая медицина. – 2005. – № 12. – С. 60–64.
11. Шемеровский К. А Хронофизиологический фактор риска запора // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2000. – № 3. – С. 63–66.
12. Wiriyakosol S., et al. Randomized Controlled Trial of Bisacodyl Suppository Versus Placebo for Postoperative Ileus After Elective Colectomy for Colon Cancer // Asian J. Surgery. – 2007, Jul. 30. – № 3. – P. 167–172.

© А.М. Корольюк, 2008

© А.М. Korolyuk, 2008

ОТ «ПРОСТОКВАШИ МЕЧНИКОВА» К СОВРЕМЕННЫМ ПРОБИОТИЧЕСКИМ ПРОДУКТАМ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

А.М. Корольюк

Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия,
Санкт-Петербург, Россия

Корольюк А.М. От «простокваши Мечникова» к современным пробиотическим продуктам функционального питания // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 146–151.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации», 194100, Санкт-Петербург, Litovskaya str., 2, Тел. (812) 542-39-83, Тел. /факс: (812) 295-40-85, Эл. почта: spb@spma.ru

Р е з ю м е : В статье анализируется эволюция представлений о продуктах питания, обогащенных полезными микроорганизмами. Систематическое их употребление оптимизирует состав и полезные функции микробиоты организма, что положительно влияет на состояние физического и психического здоровья человека. Рассмотрены различные подходы к определению термина «продукты функционального питания», требования к селекции пробиотических микроорганизмов, основные критерии оценки качества готовых продуктов. Обсуждаются причины возможных негативных результатов на стадии научной разработки, производства и потребления пробиотических продуктов питания. Оценивается состояние и перспектива развития данного сегмента науки и производства в России и в мире. Предложена концепция пробиотической микробиологии как нового научного направления, основы которого были созданы И.И. Мечниковым.

К л ю ч е в ы е с л о в а : функциональные продукты питания, И.И. Мечников, пробиотические продукты питания, концепция пробиотической микробиологии, пробиотические штаммы

Korolyuk A.M. From «E. Metchnikoff's sour curdled milk» to modern probiotic functional food // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 146–151.

¹²State Educational Establishment of Higher Professional Training «Sankt-Petersburg state pediatric Medical academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 194100, St.-Petersburg, Litovskaya str., 2, tel. (812) 542-39-83, tel. /fax: (812) 295-40-85, e-mail: spb@spma.ru

S u m m a r y : The evolution of representations about a foodstuff enriched by useful microorganisms is analyzed in the article. The regular consumption of these products optimizes the structure and useful functions of microbiota of an organism which has a positive influence on physical and mental health of the person. In this article are examined different ways to term the definition of «functional food», requirements to the selection of probiotic microorganisms, the basic criteria of quality estimation of products. The reasons of possible negative results at the stage of scientific work, manufacturing and consumption of the probiotic functional food are

discussed. The condition, perspective of developing of the given branch of a science and manufacture in Russia and in the world is estimated.

The conception of probiotic microbiology as the new scientific line which has been created by E.E. Metchnikoff is offered in this work.

Опередив современников на несколько десятилетий, И.И. Мечников еще в начале XX века впервые сформулировал новый взгляд на отношения человека с его микрофлорой, который уже в 1903 году был представлен в «Этюдах о природе человека» и других публикациях [4], выдержки из которых позволяют оценить главную идею:

– «Кишечная флора – главная причина кратковременности нашей жизни, пресекающейся слишком рано»

– «Присутствие большого количества молочных микробов неизбежно должно мешать размножению гнилостных микробов, что одно уже очень полезно для организма».

– «По нашему мнению, лучше всего употреблять кислое молоко, приготовленное при помощи чистых культур молочнокислых бактерий, а также эти культуры в виде мягкой мази, которую можно смешивать с вареньем».

– «Среди молочных бактерий лучше других «болгарская палочка» и «стрептобациллы» (по современной классификации – *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*, *Streptococcus salivarius* ssp *thermophilus*).

И.И. Мечников был глубоко убежден в том, что «дикие и вредные бактерии в кишечнике» могут и должны быть «удалены» при помощи простокваши и содержащихся в ней молочнокислых бактерий [4].

Некоторые рекомендации Ильи Ильича отличались радикализмом. За это его критиковал виднейший ученый в области физиологии пищеварения И.П. Павлов: «Он (Мечников) считает, что здесь природа сделала промах и что его необходимо даже исправить, удалив всю толстую кишку как место, где совершаются процессы разложения остатков пищи микробами. Я думаю, что здесь утрировка, преувеличение. Теперь, при наших еще скудных знаниях, нельзя так резко, без долгого разговора приговаривать толстую кишку к уничтожению. < ... > Мечников в гниении, в этой деятельности микроорганизмов, видит главным образом причину недолговечности современного человека. < ... > Как же к этому относиться? Правда, бывают патологические проявления, связанные с присутствием в кишке бактерий, но из этого вовсе не следует, что кишечные микроорганизмы совершенно не нужны. Мое заключение таково, что работа бактерий в организме есть вполне законная работа, акт, способствующий пищеварению. Дело здесь вовсе не в том, что организм не может сладить с микробами; нет, когда нужно – он сладит. Очевидно, что бактерии в этой части кишок, толстой кишке, нужны для некоторых целей». Поразительно как И.П. Павлов, не будучи микробиологом и не обладая нынешним знанием о функции кишечной микрофлоры, совершенно верно определил ее важность для жизнедеятельности всего организма.

Вместе с тем академик Павлов высоко ценил Мечникова – ученого и патриота, именно он горячо приветствовал его, специально приехавшего в 1909 г. в Санкт-Петербург для обсуждения мероприятий по борьбе с эпидемией холеры.

В 1907 г. И.И. Мечников предположил, что причиной возникновения многих болезней, в том числе и инфекционных, может быть совокупное действие на клетки и ткани организма разнообразных токсинов и других метаболитов, продуцируемых микробами самого организма. К сожалению, в последующие десятилетия интерес к изучению причинной роли аутофлоры человека в норме и при патологии упал. И только начиная с 60-х годов прошлого века, ученые и практики вновь обратились к мыслям И.И. Мечникова о важнейшей роли постоянного микробного населения организма в поддержании здоровья и развитии болезней.

Эти проблемы привлекли внимание не только микробиологов, но и ученых из других наук – иммунологи, гнотобиологи, физиологи и биотехнологи, фармакологи, клинической медицины и ветеринарии.

Прогресс в области биомедицинской микробной эндэкологии, успешное использование этих результатов в практике позволили сформулировать **концепцию пробиотической микробиологии** [1, 3], как новой субдисциплины, которая стала результатом интеграции специалистов различных областей науки и практики в направлении, открытом И.И. Мечниковым.

Объект (предмет) пробиотической микробиологии как научной субдисциплины – микробиота, ее состав и функции, взаимодействие с организмом хозяина. **Цель** – получение новых средств и методов управления симбиотическим комплексом «макроорганизм-микробиота» для профилактики заболеваний, укрепления здоровья и продления оптимального долголетия.

Основными научными задачами пробиотической микробиологии являются:

– изучение состава и функционирования микробиоты различных биотопов организма в норме и при патологии;

– исследование механизмов и факторов взаимодействия микробиоты с организмом хозяина;

– отбор и подготовка перспективных кандидатов для конструирования пробиотических средств.

Полученные при этом новые данные стимулируют внедрение достижений науки в практику медицины и ветеринарии в следующих разделах:

– методическое совершенствование и практика диагностики дисбиотических сдвигов (клинико-лабораторный сегмент);

- разработка и производство средств коррекции микробиоты (биотехнологическое направление);
- применение пробиотических средств лечения больных, патология которых обусловлена или поддерживается дисбиозом, оздоровления и предупреждения заболеваний (лечебно-профилактическое направление).

За три десятилетия новые идеи и практические разработки в области оптимизации микробиоты человека уже вышли из стен экспериментальных лабораторий и успешно внедряются в практику. В последние годы особенно активно развивается сектор пробиотических продуктов функционального питания и БАД к пище с целью профилактики метаболических расстройств, диабета, ожирения, рака, сердечно-сосудистых заболеваний, оздоровления и продления жизни населения. В 2006 году американские микробиологи (9) метко описали этот феномен: «шум вокруг пробиотиков перешел в рев..., пробиотики, пребиотики и синбиотики стали горячей областью исследований, клинической практики и глобального рынка» (The buzz surrounding probiotics has become a roar...).

Термин «функциональное питание» был впервые предложен в 1989 г. японскими специалистами в сфере так называемого «здорового питания». Они рекомендовали относить к продуктам функционального питания (ПФП) природные продукты, содержащие бифидобактерии, а также неперевариваемые олигосахариды и пищевые волокна, которые при их регулярном употреблении улучшают физическое и психическое здоровье человека, позитивно воздействуя на различные системы, органы и физиологические функции организма.

Есть иные трактовки понятия функционального питания. Некоторые авторы предлагают уточнить механизм их действия, ограничив спектр продуктов функционального питания только теми, которые оздоравливают организм, воздействуя непосредственно на микрoэкологический статус человека [6]. Однако по зарубежным публикациям можно судить о тенденции к дальнейшему расширению сферы применения и ассортимента ПФП за счет традиционных продуктов, обогащенных витаминами, микрoэлементами и другими микронутриентами. Поэтому, чтобы выделить ПФП с четко выраженным пробиотическим действием, целесообразно использовать компромиссный термин – **пробиотические продукты функционального питания (ППФП)** или **пробиотические продукты питания (ППП)**.

В России в 2005 году введен новый национальный стандарт «Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определение. ГОСТ Р 52349–2005» [2]. Согласно ему функциональный пищевой продукт (functional food) – это «пищевой продукт, предназначенный для систематического потребления в составе пищевых рационов всеми возрастными группами здорового населения, с целью снижения риска развития заболеваний, связанных с питанием, сохранения и улучшения здоровья за счет наличия в

его составе физиологически функциональных пищевых ингредиентов».

Иными словами, ПФП занимают место между лекарствами и обычными продуктами питания. Систематическое их употребление особенно должно быть полезно людям групп риска – детям и старикам, беременным и кормящим женщинам, космонавтам, спортсменам, военным, больным.

Существенным отличием ППФП от лекарственных пробиотиков или пробиотических БАД, является продолжительность их употребления. ППФП можно применять неограниченно долго, без риска нарушить микрoэкологический статус организма, поскольку концентрации пробиотических микроорганизмов (ПМ) в них близки к физиологическим. В БАДах они во много раз выше и потому эти препараты принимают курсами определенной продолжительности.

Иногда ошибочно считают пробиотическими практически любые кисломолочные продукты (простоквашу, кефир, йогурт, ряженку, ацидофилин и т. п.), поскольку они тоже содержат полезные бактерии. В действительности кисломолочные продукты становятся функциональными только в тех случаях, когда они обогащены уникальными штаммами микроорганизмов, к отбору которых международное сообщество ученых и производителей подходит даже более строго, чем для лекарств или БАДов.

Критерии, которым должны соответствовать пробиотические штаммы и функциональные продукты на их основе были сформулированы на рубеже XX–XXI веков [6, 7, 8, 10, 11]. Необходима тщательная проверка штаммов-кандидатов на соответствие строгим микробиологическим, генетическим, иммунологическим, токсикологическим и фармакологическим параметрам.

1. Производственные штаммы должны быть **человеческого происхождения**, то есть выделены из микрофлоры здоровых людей. Это отличает их от пробиотиков, которые могут содержать микроорганизмы, не представленные в микробиоте здоровых лиц (бактисубтил, споробактерин, энтерол). Почти все микроорганизмы, широко используемые для производства йогуртов и других молочнокислых продуктов, не соответствуют вышеупомянутому требованию. Кроме того, они плохо переносят действие желудочного сока и желчи. (Кстати, в пищевой микробиологии до сих пор используют старые видовые наименования без указания номера штамма – *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* и т. п.). Штамм «простокваши Мечникова» тоже не прошел современный отбор.

2. ПМ должны **положительно влиять на состав и функции микрофлоры кишечника**, способствуя тем самым общему оздоровлению макроорганизма. Считают, что это обеспечивается комплексом факторов, таких как антагонистическая активность против патогенных и условно-патогенных микробов, прочная адгезия на слизистой толстого кишечника, выработка аутометаболитов. Последние сейчас особенно интен-

сивно изучают, поскольку оказалось, что они не только стимулируют развитие полезной (friendly) аутомикрофлоры хозяина, но и индуцируют позитивные иммунные и метаболические эффекты в эукариотических клетках организма.

3. После орального приема штаммы должны **выживать и размножаться в кишечнике**, следовательно, им необходима резистентность к желудочным и кишечным секретам, желчи, способность к росту в анаэробных условиях.

4. **Отсутствие потенциала патогенности, инвазивности и аллергенности.** Допускается наличие умеренной иммуномодулирующей активности. Поэтому штаммы кишечной палочки или энтерококка не разрешены для приготовления ППФП, поскольку есть сомнения в полном отсутствии островков патогенности в геномах.

5. **Отсутствие R-плазмид**, детерминирующих множественную устойчивость к антибиотикам. Плазмидные фрагменты ДНК, содержащие R-гены, повышают риск распространения их на микроорганизмы нормофлоры. Не возбраняется хромосомно обусловленная антибиотикорезистентность штаммов.

6. **Технологичность**, т. е. способность штаммов быстро размножаться в простых субстратах (молоке, соках), резистентность к факторам технологического процесса, хорошая выживаемость в готовом продукте и т. д. Понятно, что введение микроорганизмов в продукты не должно уменьшать содержание и усвояемость других пищевых веществ, сильно изменять вкус и аромат продуктов, сокращать срок их хранения, то есть ухудшать их потребительские свойства.

Эти строгие требования было предложено дополнить и усилить (12):

- Каждый потенциальный пробиотический штамм должен быть документирован, зарегистрирован и запатентован.

- Для производства пробиотических продуктов могут быть использованы только хорошо изученные штаммы, продукты и популяции.

- Все исследования на людях должны быть рандомизированы и выполнены двойным слепым методом с плацебо-контролем.

- Результаты должны быть подтверждены независимыми исследовательскими группами с публикацией в авторитетных журналах.

Суровые требования сузили круг потенциальных претендентов до трех групп бактерий: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и реже *Streptococcus*. Штаммы этих молочнокислых бактерий используются наиболее часто потому, что они воспринимаются как наиболее желательные компоненты кишечной микрофлоры. Кроме того, эти бактерии имеют статус GRAS (обычно считающиеся надежными) и традиционно используются в промышленности, выпускающей ферментированные молочнокислые продукты.

Важно еще отметить, что указанным выше критериям отвечают далеко не все разновидности этих трех групп бактерий, а **только определенные штаммы не-**

которых видов. Для подтверждения соответствия следует провести серьезные доклинические и клинические испытания, требующие солидных финансовых затрат. Многие компании не могут себе этого позволить. Однако желание продавать оригинальные продукты подталкивает их к заимствованию чужих научных результатов для механического перенесения на свои штаммы.

В России государственные клинические испытания, контролируемые официальными инстанциями (ГИСК и КМИБП), требуются только для лекарственных пробиотиков. Для БАД и ПФП достаточно упрощенной схемы клинической оценки в учреждении, имеющем соответствующее разрешение. Поэтому многие фирмы в целях экономии предпочитают регистрировать свои препараты в форме БАД, хотя по основным характеристикам они не отличаются от лекарств.

Интересно отметить, что все пробиотические штаммы хорошо размножаются в молоке, ферментируя его. (И в этом И.И. Мечников оказался пророческим!) Не случайно большинство пробиотических продуктов, подобно йогуртам, готовят на молоке, реже – на основе фруктовых или овощных соков.

Следует отметить роль этих субстратов в ППФП:

- Легко усваиваемый пластический материал, который после микробной ферментации приобретает дополнительные функции. Например, бифидобактерии трансформируют кальций в молоке в более усваиваемую форму, расщепляют казеин до низкоаллергенного состояния и т. д.

- Питательная среда, позволяющая создать функциональный компонент – концентрат живых пробиотических микроорганизмов и ценных аутометаболических веществ.

- Проводник (вектор) для внедрения микробов в пищеварительный тракт.

- Защита ПМ от повреждающего действия секрета желудочно-кишечного тракта.

- ППФП по типу функциональных компонентов подразделяются на 2 группы:

- Обогащенные живыми пробиотическими штаммами бифидобактерий или лактобактерий (Актимель, Бифилайф, Бифилин, *Gefilus* и др.) Это классический вариант, прообразом которого была простокваша Мечникова.

- Обогащенные пребиотиками – олигосахаридами, пищевыми волокнами, эйкосанпентаноикой кислотой, лактулозой, пектинами, т. е. веществами немикробного происхождения или микробными метаболитами.

Принято считать, что в дневной дозе продукта любой функциональный компонент должен составлять 15–20% (а то и 50%) суточной его потребности. Анализ литературы показывает, что эффективное суточное количество жизнеспособных клеток ПМ находится в диапазоне 10^9 – 10^{11} . Например, в одной упаковке продукта фирмы Danon (Actimel – в Европе, DanActive – в США) содержится 10 млрд живых про-

биотических бактерий. Получаемое человеком за день количество ПМ, строго говоря, должно соответствовать данным клинических исследований. Во всяком случае законодательно установлено, что концентрация ПМ к концу срока годности продукта должна быть не менее 1 млн жизнеспособных клеток в 1 мл. Чтобы продукт имел запас прочности на весь период годности, концентрация ПМ в свежеприготовленном продукте обычно выше на 0,5–1 логарифма, т. е. $5 \cdot 10^6$ – 10^7 КОЕ/мл.

Отсутствие у части потребителей ожидаемого эффекта, вызывает у них понятное недовольство и претензии к производителям. В чем тут дело? На наш, взгляд основная причина неудач заключается в возможном несоответствии штамма или продукта особенностям организма конкретного человека. Ведь физиология пищеварения, состав микробиоценозов кишечника, состояние слизистых оболочек, наконец, пищевые привычки каждого человека сугубо индивидуальны. Торопиться с выводами не стоит. Однако, если после одного месяца нет никакого эффекта или есть нежелательные побочные реакции – надо прекратить прием таких продуктов или перейти на другой с иным штаммом. Вдумчивый врач может дать правильную рекомендацию, оценив общий и пищевой статус здорового пациента. Обязательно нужен совет грамотного доктора пациентам с выраженным иммунодефицитом или с серьезной желудочно-кишечной патологией.

К сожалению, нередко причина неудачи кроется в сниженном содержании ПМ вследствие дефекта производства или несоблюдения температуры хранения продукта (требуется холод!). Экспертное исследование, проведенное международной организацией, показало, что треть и более пробиотических продуктов, а в Голландии до 80%, не содержат требуемых уровней активных бактерий. Однажды и в России в авторитетной газете была статья с подобными данными Республиканского ЦСЭН (г. Москва) о широко разрекламированном бифидосодержащем продукте. Однако в дальнейшем такие публикации в СМИ больше не появлялись, т. к. фирмы принимают все меры вплоть до судебных процессов, чтобы опровергнуть обвинения.

Сложность объективного контроля состоит в том, что надо знать точную методику определения конкретного пробиотического штамма в данном продукте. Она бывает технически достаточно сложна и обычно изложена в Технических условиях (ТУ) для внутреннего использования на предприятии. Внешний контроль может состоять только в проверке на присутствие нерегламентированных микроорганизмов в готовой продукции (бактерий группы кишечной палочки, стафилококка и др.). Поэтому попытка произвести независимый контроль может привести к ошибочному заключению о недостаточной концентрации ПМ в коммерческом продукте. Однако, по нашим данным, даже без знания точной методики возможная погрешность в квалифицированной лаборатории не превышает одного логарифма. Как же относиться к тому,

что вместо заявленной концентрации 10^6 активных бактерий в 1 мл, там не обнаруживается и 10^2 ? Кроме того, у предприятия-производителя всегда есть удобный аргумент – неправильное хранение продукта в торгующей сети. Даже в США нет независимой организации, контролирующей качество изделия на соответствие информации в этикетке. Все сводится к призыву FDA (ассоциации диетических продуктов) к фирмам быть правдивыми и не вводить потребителей в заблуждение.

Что же можно посоветовать простому потребителю? Самое лучшее – покупать продукты от хорошо зарекомендовавшей себя известной компании, которая правильно и полно представляет в этикетке информацию о штамме ПМ и его концентрации, а также следовать рекомендациям изготовителя об условиях хранения.

Еще труднее контролировать специфическую активность продуктов, обогащенных пребиотиками, поскольку здесь нужны либо тонкие количественные методы химического анализа, либо тестирование по каким-либо биологическим эффектам типа стимуляции роста других микроорганизмов в питательной среде.

Перечень основных штаммов пробиотических микроорганизмов, используемых для производства функциональных продуктов, хорошо представлен в научных обзорах [5, 6].

К числу достаточно надежно проверенных по совокупности вышеприведенных свойств можно отнести штаммы крупных компаний:

- *L. casei* Immunitas, *B. animalis* DN-173010 (*Bifidus* Essentis) фирмы Danone (Франция)
- *L. casei* Shirota (или LCS), *B. breve* фирмы Yakult (Япония);
- *L. rhamnosus* GG фирмы Valio (Финляндия)
- *L. acidophilus* LA7, LA5 и *B. lactis* BB12 фирмы Christian Hansen (Голландия);
- *L. johnsonii* La1 (LC1) фирмы Nestle (Швейцария)

Что касается штаммов, практикуемых в России, то многолетнее применение ряда проверенных штаммов в лекарственных пробиотиках, считают достаточным основанием для их использования при производстве продуктов функционального питания. Вероятно это так, хотя формально и не вполне отвечает современным требованиям к клинической оценке (рандомизированные исследования, выполненные двойным слепым методом с плацебо-контролем).

Однако и для известных зарубежных пробиотических штаммов пока нет полноформатных клинических доказательств таких рекламируемых эффектов как снижение риска рака толстой кишки, уменьшение уровня холестерина, профилактика диабета, остеопороза, авитаминоза, активация интеллектуальных способностей и т. п. Надежно доказанными можно считать (только для нескольких штаммов!) способность облегчать патологические проявления при диареях различной этиологии (ротавирусной, аденовирусной,

шигеллезной) у детей и взрослых, уменьшение запора и улучшение стула у младенцев, снижение тяжести дисбиотических проявлений после антибактериальной терапии, облегчение кожно-аллергического синдрома при атопии. Есть основания полагать, что спектр достоверно подтвержденных профилактических свойств ПМ и ППФП в ближайшее десятилетие будет существенно расширен.

В развитых странах мира наблюдается бурный рост производства и потребления функциональных продуктов питания для разных возрастных и профессиональных групп населения. Особенно высокие темпы роста этих изделий, включая пробиотические продукты питания, отмечены в Японии. На европейском сегменте рынка ППФП, оборот которого составляет около 1 млрд долларов США, доминируют такие известные фирмы как «Данон» и «Беснь» (Франция), «Нестле» (Швейцария), «Якулт» (Япония), «Кампина» и «Кристиан Хансен» (Голландия). В середине 90-х годов этот рынок стали активно завоевывать изделия финской фирмы «Валио», хорошо знакомой в России поставками сливочного масла и других молочных продуктов. На Российском рынке отечественные пробиотические продукты представлены в ограниченном ассортименте. Совокупная пробиотическая продукция, включая лекарственные препараты, БАД и ППФП, удовлетворяет потребительский спрос по стране в целом менее чем на 5%. Вместе с тем отмечается постепенный рост этого сегмента рынка, по пробиотическим продуктам питания в основном за счет импортных марок (Danon, Valio и др.).

Оптимистические прогнозы сулят продуктам функционального питания рост с нынешних 5% от объема всех пищевых продуктов в мире до 30% через 15 лет. При этом они существенно (на 35–50%) заменят многие традиционные лекарства [6]. Без всякого

сомнения, пробиотическое питание, научные основы которого были заложены нашим великим соотечественником И.И. Мечниковым, будут достойно представлены в этом списке. Это приблизит нас к реализации мечты Гиппократата, чтобы пища стала лекарством, а лекарства – пищей.

Список литературы

1. Бондаренко В.М., Королук А.М. Пробиотическая микробиология: современное состояние и проблемы // Клинич. Питание. – 2007. – № 1–2. – С. 24.
2. ГОСТ Р 52349–2005 Продукты пищевые функциональные. Термины и определения.
3. Королук А.М., Нынь И.В. Пробиотическая микробиология: предмет и задачи // Мат. IX съезда Всероссийского н.-практ. общества эпидем., микроб. и паразитол. – М.: С-Инфо, 2007. – ч. 2. – С. 300–301.
4. Мечников И.И. Академическое собрание сочинений. – М.: АН СССР, 1962, Том. XV. – 468 с.
5. Шевелева С.А. Медико-биологические требования к пробиотическим продуктам и биологически активным добавкам к пище // Инфекц. бол. – 2004. – № 2 (3). – С. 86–90.
6. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т. III: Пробиотики и функциональное питание. // М.: ГРАНТЪ. 2001. – 288 с.
7. Guidelines for the evaluation of probiotics in food // Joint FAO/WHO Working Group, 2002.
8. Klaenhammer T. Probiotic bacteria: today and tomorrow // Journal of Nutrition. – 2000. – Vol. 130. – P. 415–416.
9. Probiotic microbes: the scientific basis // American Society for Microbiology. – 2006, August 11. – 12 p.
10. Salminen S. Uniqueness of probiotic strains // IDF Nutr. News Lett. – 1996.5: 16–18.
11. Tuomola E., Crittenden R., Playne M., Isolauri E., Salminen S. Quality assurance criteria for probiotic bacteria // American Journal of Clinical Nutrition. – 2001. – Vol. 73 (2). – P. 393–398.
12. Vanderhoof J. Probiotics: future directions // American Journal of Clinical Nutrition. – 2001. – Vol. 73 (6). – P. 1152–1155.

© М.В. Самсонова, И.Ю. Мельникова, 2008
© M.V. Samsonova, I.U. Melnikova, 2008

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛАКТОСОДЕРЖАЩИХ ПРОБИОТИКОВ В ТЕРАПИИ НР-АССОЦИИРОВАННОГО ГАСТРОДУОДЕНИТА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

М.В. Самсонова, И.Ю. Мельникова

Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, Санкт-Петербург, Россия

Самсонова М.В., Мельникова И.Ю. Перспективы использования лактосодержащих пробиотиков в терапии НР-ассоциированного гастродуоденита у детей // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 151–154.

Государственное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (ГОУ ДПО СПб МАПО Росздрава), 191015, Кирочная ул., д. 41, тел.: 272-52-06, факс: 273-00-39, Эл. адрес: admin@maps.spb.ru

Резюме. В работе представлены результаты сравнительной оценки различных схем эрадикационной терапии НР-ассоциированного гастродуоденита у детей и подростков. Установлено, что монотерапия пробиотиком, состоящего из двух

симбиотических штаммов *L. acidophilus* Д75 и Д76 с доказанным синтрофическим эффектом, оказалась сопоставима со стандартными эрадикационными схемами.

Samsonova M.V., Melnikova I. Yu. Prospect of lactocontaining probiotics in the therapy of HP-associated gastroduodenitis in children and teenagers // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 151–154.

State Educational Establishment for Additional Professional Training «Saint-Petersburg Medical Academy for Post-Diploma Training of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 191015, Kirochnaya str., 41, tel.: 272-52-06, fax: 273-00-39, e-mail: admin@maps.spb.ru

S u m m a r y . This issue presents the results of a comparative study of treatment schemes for Hp-associated gastroduodenitis in pediatric practice. It is established that probiotic monotherapy with two symbiotic *L. acidophilus* D75 and D76 cultures with proved syntrophic activity shows comparable results with standard eradication schemes.

В последние 15–20 лет отмечается неуклонный рост распространенности хронического гастродуоденита (ХГД) у детей разных возрастных групп. Среди этиологических факторов развития ХГД ведущее место занимает инфекция *H. pylori* (НР). Инфицированность НР детей с ХГД существенно отличается в разных регионах России и зарубежья [3, 6]. В России первичная резистентность НР к метронидазолу обнаружена у 55,5% изученных штаммов. У детей этот показатель составляет 27% [3]. Увеличение резистентности НР к компонентам эрадикационной терапии, побочные эффекты антибиотикотерапии, неблагоприятное воздействие на микробиоценоз, приводит к необходимости поиска альтернативных методов лечения и профилактики с учётом биологических закономерностей взаимодействия макроорганизма и представителей индигенной микрофлоры желудочно-кишечного тракта [3, 4]. В работах последних лет доказана высокая антагонистическая активность бактерий рода *Lactobacillus* в отношении НР [2, 7, 8, 9]. Потенциальная терапевтическая активность пробиотиков определяется их штаммовой формулой и лекарственной формой препарата [1, 5]. К активным антагонистам НР относятся штаммы ацидофильных палочек препарата Витафлор, производства ГосНИИОЧБ СПб. Штаммы ацидофильной палочки Витафлора (*L. acidophilus* Д75 и Д76), образуют устойчивую симбиотическую систему с доказанным эффектом синтрофии и синергизма медико-биологических свойств отдельных штаммов.

Ц е л ь р а б о т ы – совершенствование схем эрадикационной терапии с использованием лактосодержащих пробиотиков (Витафлор, Нарине) у детей.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . Обследовано 142 пациента в возрасте от 12 до 17 лет (средний возраст $14,1 \pm 1,8$ лет) с хроническим гастродуоденитом, ассоциированным с НР. Пациенты были распределены на четыре группы, в зависимости от вариантов эрадикационной терапии.

Пациенты первой группы получали монотерапию Витафлором в течение 4-х недель, вторая группа – четырехкомпонентную эрадикационную схему (омепразол, де-нол, клацид, макмирор) в комплексе с пробиотиком Витафлор, третья группа – сочетание четырехкомпонентной эрадикационной схемы и пробиотика Нарине, четвертая группа – курс квадротерапии в соответствии со стандартами лечения НР – ассоциированного ХГД (омепразол, де-нол, клацид, макмирор).

Всем пациентам проведены ФЭГДС с прицельной биопсией антрального отдела желудка и 12-перстной кишки, гистоморфологическое исследование биоптатов, оценка микробного пейзажа толстой кишки до и после терапии. Диагностика НР и контроль эрадикации проводились тремя способами: дыхательный (UBT) тест, хелик-тест, морфологический метод.

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я . Разные варианты комплексной терапии НР-ассоциированного ХГД, стандартная антибиотикотерапия, в сочетании с пробиотиками и монотерапия Витафлором были эффективны. Достоверных различий по группам сравнения в динамике клинической картины получено не было. Побочные эффекты терапии выявлены в виде разных вариантов нарушения стула. Запоры и неустойчивый стул отмечен у половины детей третьей и четвертой групп (50,0% и 47,0%) ($p < 0,01$). В группах, получавших в комплексной терапии Витафлор, побочные эффекты были минимальны (4,8% и 6,3% соответственно). При изучении микробиоценоза кишечника, нарушения микрофлоры в той или иной степени выявлены у всех пациентов четвертой группы, как до начала терапии, так и после завершения. Достоверно чаще ($p < 0,01$), по сравнению с группой монотерапии Витафлором (рис. 1), выявлены дисбиотические изменения II и III степени (30,0% и 61,7%).

В третьей группе дисбактериоз II степени сохранялся в 62,5% случаев, что достоверно чаще ($p < 0,01$), чем в первой и второй группах (2,4% и 18,8%). У 85,7% пациентов из группы монотерапии Витафлором про-

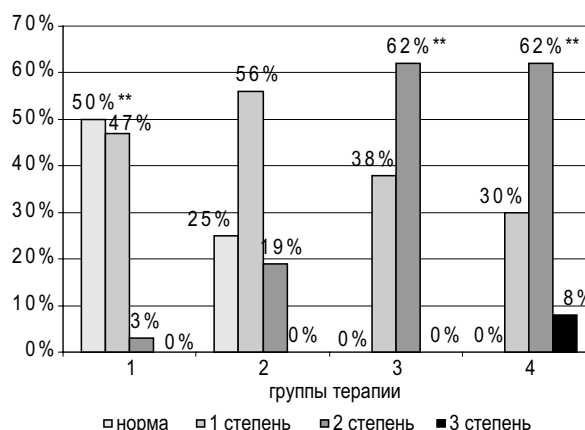


Рис. 1. Нарушения микрофлоры толстой кишки

Примечание. ** $p < 0,01$

изошло улучшение качественного состава микрофлоры кишечника ($p < 0,001$). После окончания терапии нарушений флоры не выявлено в 50,0% случаев у пациентов первой и в 25,0% случаев у детей второй групп, в отличие от групп сравнения, в которых нормальных показателей микрофлоры не было ни у одного пациента.

Динамика эндоскопической картины после терапии в большинстве случаев проявлялась в виде уменьшения распространенности воспаления, гиперплазии, репарации эрозий, исчезновения атрофических изменений СОЖ и двенадцатиперстной кишки. Статистически достоверной разницы между группами не отмечено.

Изменение уреазной активности НР оценивалось на основании данных дыхательного теста (UBT) и HeliPil – теста. Дыхательный тест стал отрицательным у 64,1% детей, достоверных различий по группам не выявлено. В группе монотерапии Витафлором отрицательный UBT тест зафиксирован в 76,2% случаев, во второй группе – в 68,7%, в третьей и четвертой группе одинаково в 66,7% случаев. По данным хелипил-теста в группах, в которых использовались антибиотики, процент эрадикации был высокий (81,3%, 87,5% и 66,7%), но не отмечено достоверных различий по сравнению с группой пациентов, получавших только Витафлор (54,8%). В сочетании антибиотикотерапии с пробиотиком (вторая и третья группы) показатели эрадикации были выше (81,3% и 87,5%), в отличие от детей, получавших только квадросхему (66,7%). По данным морфологического исследования, у пациентов первой группы при контрольном исследовании НР не обнаружен у 55% детей в биоптатах антрального отдела и 77% биоптатов 12-перстной кишки. Эффективность эрадикации в антральном отделе желудка во второй, третьей и четвертой группах не имела статистически достоверных различий и составила 55,0%, 47,0%, 53,0% соответственно. В 12-перстной кишке показатели эрадикации были выше (100,0%, 67,0%, 68,5%). В третьей и четвертой группах пациентов в случаях неполной эрадикации, бактерии обнаружены на уровне железистого эпителия слизистой оболочки желудка (35,0% и 30,0%) (рис. 2) и в глубине крипт 12-перстной кишки (29,0% и 26,0%), что достоверно выше, чем в группах с Витафлором ($p < 0,05$).

В неактивной кокковой форме НР был обнаружен у 10,0% пациентов первой и второй групп и у 3,0% детей из четвертой группы (кокковых форм НР до эрадикации не обнаружено). Необходимо отметить, что в группах с применением Витафлора, в случаях неполной эрадикации, НР обнаруживался в слизи и на поверхности покровного эпителия (25,0% и 14,0%).

На фоне лечения в первой и второй группах значительно уменьшилась выраженность инфильтрации нейтрофильными гранулоцитами (НГ), как в антральном отделе желудка, так и в 12-перстной кишке. После эрадикационной терапии НГ полностью отсутствовали в слизистой оболочке указанных отделов в 62,5% и 75,0% случаев, соответственно, ($p < 0,05$), по сравне-

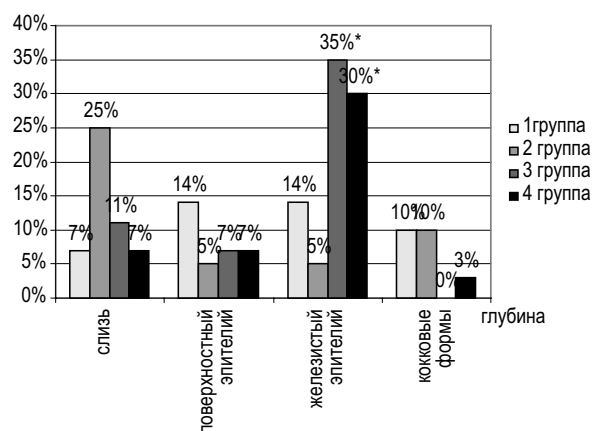


Рис. 2. Локализация НР в слизистой оболочке желудка

Примечание. * $p < 0,05$.

нию с третьей и четвертой группами, где и после лечения сохранялась инфильтрация 1 степени в 62,5% и 44,1% случаев ($p < 0,05$). Данный факт, возможно, связан с сохраняющейся персистенцией НР в глубоких слоях слизистой оболочки у пациентов этих групп.

Статистически достоверных различий в динамике лимфоплазмочитарной инфильтрации по группам не получено, однако лимфоплазмочитарная инфильтрация слизистой оболочки на фоне терапии значительно уменьшилась до слабой и средней степени выраженности. Полностью отсутствовала инфильтрация лимфоцитами в 20,0% случаев в первой группе и это количество наблюдений достоверно больше, чем до лечения ($p < 0,05$).

Атрофические изменения из 8 случаев (17,5%), обнаруживаемые до лечения в антральном отделе желудка в разной степени выраженности, после лечения отмечались у 4-х пациентов (10,0%) ($p > 0,05$) и были минимальны у 2-х пациентов из первой и второй групп. У пациентов третьей и четвертой групп атрофические изменения остались без выраженной динамики, хотя статистически достоверных различий по группам не получено. В 12-перстной кишке проявления атрофии на фоне эрадикационной терапии уменьшились с 7,1% случаев до 2,6%, без каких-либо достоверных различий по группам сравнения. Кишечная метаплазия после курса терапии не была обнаружена ни у одного больного (до лечения она отмечена у 4-х детей).

З а к л ю ч е н и е : Таким образом, согласно нашим наблюдениям, Витафлор в виде кисломолочного продукта оказался наиболее эффективным у детей с ХГД, ассоциированным с НР – инфекцией как в виде монотерапии, так и в сочетании с антибиотиками эрадикационной схемы, нивелируя побочные эффекты последних и повышая эффективность терапии в целом. Нами подтверждена достаточно высокая степень антагонизма штаммов Витафлора к НР *in vivo*. Степень эрадикации в группе монотерапии Витафлором сравнима с таковой в группах с антибиотиками. Проведенные исследования показали, что кисломолочный продукт Витафлор хорошо переносится боль-

ными без каких-либо побочных эффектов и может быть рекомендован для применения в педиатрической практике с целью эрадикации НР-инфекции.

Список литературы

1. Бондаренко В.М., Воробьев А.А., Мельникова И.Ю., Петров Л.Н. Обоснование и тактика назначения в медицинской практике разных форм пробиотических препаратов // Международная конференция «Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Современное состояние и перспективы» (Россия, Москва, 2–4 июня 2004 г.). – М., 2004. – С. 5–6.
2. Бондаренко В.М. Прикладные аспекты молекулярной биологии бифидобактерий и лактобацилл // Журн. микробиол. – 2006. – № 2. – С. 89–97.
3. Корсунский А.А., Щербаков Н.Л., Исаков В.А. Хеликобактериоз и болезни органов пищеварения у детей. – М.: «Мед. практика». – 2002. – 168 с.
4. Мельникова И.Ю. О побочных эффектах антихеликобактерной терапии у детей и подростков. Известия высших учебных заведений Северокавказского региона // Гастроэнтерология юга России. Естественные науки. Спецвыпуск. – 2005. – С. 34–35.
5. Мельникова И.Ю., Петров Л.Н. Теоретические аспекты применения пробиотиков в педиатрии // Актуальные вопросы педиатрии: Сборник научных трудов / под редакцией Ф.П. Романюк, В.П. Алферов, И.Ю. Мельникова. – СПб, 2006. – С. 56–61.
6. Пайков В.Л., Мельникова И.Ю., Акимов А.А., Хода Мала-ти, Дэвид Грэхэм. Возрастная структура и особенности клинической манифестации НР – инфекции у детей Санкт-Петербурга // Идеи Пастера в борьбе с инфекциями: Материалы международной конференции, посвященной «Году Пастера» (Санкт-Петербург, 6–10 июня 1995). – СПб, 1995. – С. 77–78.
7. Bergonzelli G.E., Granato D., Pridmore R.D., GroEL of *Lactobacillus johnsonii* La1 (NCC 533) is cell surface associated: potential role in interactions with the host and the gastric pathogen HP // Infect. Immun. – 2006, Jan. – Vol. 74 (1). – P. 425–34.
8. Mukai T., Asasaka T., Sato E., et al. Inhibition of binding of HP to the glycolipid receptors by probiotic *Lactobacillus reuteri* // FEMS Immunol Med. Microbiol. – 2002, Jan. – № 14. – Vol. 32 (2). – P. 105–10.
9. Ushiyama A., Tanaka K., Aiba et al. *Lactobacillus gasseri* OLL2716 as a probiotic in clarithromycin-resistant HP infection // J. Gastroenterol Hepatol. – 2003, Aug. – Vol. 18 (8). – P. 986–991.

© Л.Ю. Нилова, А.Г. Бойцов, Е.А. Оришак, 2008
© Nilova L. Ju., Boitsov A.G., Orishak E.A., 2008

К ВОПРОСУ О ПРИМЕНЕНИИ ПРОБИОТИКОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДИСБАКТЕРИОЗА ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА

Л.Ю. Нилова, А.Г. Бойцов, Е.А. Оришак

Санкт-Петербургская Государственная медицинская академия имени И.И. Мечникова

Нилова Л.Ю., Бойцов А.Г., Оришак Е.А. К вопросу о применении пробиотиков для коррекции дисбактериоза толстого кишечника // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 154–157.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУВПО СПб ГМА им. И.И. Мечникова Росздрав), 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47 Тел. (812) 543-96-09, факс: (812) 140-15-24 Эл. почта: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

Резюме. Рассмотрены факторы, влияющие на потенциальную эффективность препаратов, содержащих живые микроорганизмы, применяемых для коррекции дисбактериоза толстого кишечника. Изучена антагонистическая активность пробиотических штаммов с применением различных методик. Обоснован индивидуальный подбор препаратов разных фирм-производителей для эффективной элиминации условно-патогенных микроорганизмов при дисбактериозе толстого кишечника.

Ключевые слова: дисбактериоз, пробиотики, антагонизм

Nilova L. Ju., Boitsov A.G., Orishak E.A. Regarding the problem of probiotics usage for intestinal disbacteriosis therapy // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 154–157.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

S u m m a r y . In the field of intestinal therapy disbacteriosis the factors which influence potential effectiveness of preparations with alive microorganisms are considered. Antagonistic activity of probiotics strains is properly studied with the help of different procedures. Individual choice of different trademarks preparations for more effective elimination of conditionally pathogenic microorganisms in intestinal disbacteriosis is founded.

К e y w o r d s : disbacteriosis, probiotics, antagonism.

Цель исследования – выбор и оценка применения пробиотиков для коррекции дисбактериоза толстого кишечника.

Задачи исследования – оценка антагонистических свойств пробиотиков, по отношению к условно-патогенным микроорганизмам, выделен-

ным при диагностике дисбактериоза толстого кишечника, и по отношению к лакто- и бифидофлоре пациента.

Материалы и методы исследования. Исследование на дисбактериоз толстого кишечника проводилось в соответствии с методиками, приведенными в информационном письме

«Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника» [9]. Изучение антагонистической активности проводилось методом штрихов [2, 8], методом перевернутого агара [1], методом прямого совместного культивирования на плотной питательной среде [3], методом двухслойного агара [5].

Метод штрихов. По диаметру чашки Петри засеивали культуры пробиотиков, инкубировали 2 дня при 37°C в анаэробных условиях. Затем штрихом перпендикулярно к культуре пробиотика подсеивали тест-штаммы УПМ, инкубировали в аэробных условиях 24 часа при 37°C. Учет результатов проводился по величине ширины зоны задержки роста в мм и по числу подавляемых штаммов каждого вида УПМ.

Метод перевернутого агара. Засеивали пробиотики на плотную питательную среду. Через 2 дня культивирования предполагаемые антагонистические метаболиты диффундировали в толщу агара и влияли на последующий рост индикаторных культур, которые засеивали на обратную поверхность агара после переворачивания. Учет результатов проводился через 24 ч после посева тест-культур по отсутствию роста тест-культуры или снижению его интенсивности по сравнению с контролем без подавляющего фактора.

Метод прямого совместного культивирования на плотной питательной среде. На питательную среду перекрывающимися каплями наносили культуру пробиотика и УПМ, взятых в одинаковой концентрации. Учет проводился по подавлению роста тест-культур. Активность пробиотиков оценивали по числу подавляемых ими штаммов тестируемых микроорганизмов (в%).

Метод двухслойного агара. На поверхность питательной среды засеивали культуру пробиотика. Через 48 ч культуру инaktivировали парами хлороформа, сверху наслаивали суспензию тест-культуры в 0,7% агаре. Учет проводился по отсутствию роста тест-культуры или снижению его интенсивности по сравнению с контролем без подавляющего фактора.

Результаты исследования и их обсуждение. При дисбактериозе толстого кишечника наблюдаются изменения микрофлоры как в анаэробной составляющей (уменьшение количества лактобактерий, бифидумбактерий, бактероидов), так и в аэробной и факультативно анаэробной части флоры. Вопрос о причинно-следственных связях изменений в анаэробной и факультативно-анаэробной составляющей и механизмах межмикробных взаимоотношений остается открытым. Нередки случаи, когда количество анаэробов не изменено, но обнаруживаются условно патогенные микроорганизмы (УПМ) в диагностически значимом титре (более 10⁴ КОЕ/г): энтеробактерии, стафилококки, грибы рода Кандида, неферментирующие грамотрицательные микроорганизмы. При трактовке результатов значимым также считается выявление гемолитических микроорганизмов и золотистого стафилококка, которые в норме должны отсутствовать. В пользу значимости УПМ при дисбактериозе свидетельствуют дан-

ные исследований испражнений 627 человек, в том числе и 74 детей в возрасте до 3 лет включительно. Изменения в количестве бифидобактерий у взрослых обнаружено в 26,2% (у 135 обследуемых), лактобактерий – в 21,5% (у 119 человек). У детей снижение бифидумбактерий отмечено в 24,3% (у 18 детей), лактобактерий – в 21,6% (у 16 детей). Тогда как изменения в аэробной и факультативно-анаэробной составляющей микрофлоры были выявлены в группе взрослых в 423 случаях (76,5%); среди детей – в 72 случаях (97,3% от общего количества детей).

Считается, что пробиотики служат основным средством для подавления чрезмерного размножения УПМ и для коррекции численности резидентной микрофлоры при дисбактериозах. Наиболее широкое применение получили препараты на основе бифидобактерий и лактобацилл. Несмотря на большое количество разработанных на сегодняшний день пробиотиков, решить проблему эффективной коррекции микрофлоры при дисбиозах не удается. Возможно, причина этого – ограниченная антагонистическая активность. Кроме того, длительное применение таких препаратов само по себе может способствовать развитию дисбиотических изменений. На практике эта группа препаратов применяется без предварительного определения их антагонистической активности.

В нашей лаборатории была исследована антагонистическая активность пробиотиков, содержащих различные виды и штаммы бифидобактерий и лактобацилл: 1) «Бифидумбактерин» «Экополис» (B. bifidum № 1, 79, ЛВА-3); 2) «Нормофлорин-Б» (B. longum, B. bifidum); 3) «Бифиформ» (B. longum); 4) «Бифидумбактерин сухой» («Вирион») (B. Bifidum); 5) «Лактобактерин» («Имбио», Н. Новгород) (L. plantarum или L. fermentum); 6) «Нормофлорин-Л» (L. acidophilus); 7) «Лактобактерин» («Микроген Биомед», Пермь) (L. plantarum или L. fermentum); 8) йогурт «Актимел» («Данон») (L. casei). В качестве тест-культур использовано 100 изолятов от пациентов с дисбактериозом толстого кишечника – по 20 штаммов *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Staphylococcus* spp. и *E. coli* с измененными ферментативными свойствами. Отсроченный антагонизм изучался методом штрихов [2]. Все препараты лакто- и бифидобактерий показали низкую антагонистическую активность – они подавляли от одного до трех штаммов каждого вида УПМ (5–15%).

Те же препараты лактобактерий и культуры УПМ были исследованы методом прямого совместного культивирования [3]. Исследовали только пробиотические культуры лактобактерий из-за необходимости культивировать пробиотики и штаммы УПМ одновременно (в аэробных условиях). «Лактобактерин» («Микроген Биомед», Пермь) подавлял рост 40% штаммов *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp. – 40%, *Staphylococcus* spp. – 20%, *E. coli* с измененными ферментативными свойствами в 10%. Антагонизм в отношении *Enterobacter* spp. не выявлен ни в одном случае. «Лактобактерин» («Имбио», Н. Новгород) был наибо-

лее активен в отношении *E. coli* с измененными ферментативными свойствами – подавлялось 60% штаммов, а также подавлял культуры *Citrobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterobacter* spp. в 20% случаев. Все исследуемые штаммы *Klebsiella* spp. были устойчивы к препарату «Лактобактерин» («Имбио», Н. Новгород). Лактобактерии препарата «Нормофлорин – Л» не оказали антагонистического влияния ни на одну тест-культуру УПМ. Более того, данный штамм лактобактерий в 60% случаев подавлялся культурами *Citrobacter* spp., в 10% штаммами *Klebsiella* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterobacter* spp. и *E. coli* с измененными ферментативными свойствами. *L. casei* («Данон») проявляла максимальную антагонистическую активность против тестируемых УПМ. В 100% случаев подавлялись штаммы *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterobacter* spp., в 90% – *Klebsiella* spp.

Методом перевернутого агара [1] протестировали те же пробиотические культуры лактобактерий и штаммы УПМ. Препарат «Лактобактерин» («Микроген Биомед», Пермь) подавлял большинство штаммов *Citrobacter* spp., *S. aureus*, полностью подавлял рост *Klebsiella* spp. и *E. coli* с измененными ферментативными свойствами. «Лактобактерин» («Имбио», Н. Новгород) также был эффективен в отношении *S. aureus*, *Enterobacter* spp., *E. coli* с измененными ферментативными свойствами, но только в половине случаев был эффективен против *Citrobacter* spp. *L. casei* («Данон») полностью подавляла рост всех изолятов *Klebsiella* spp. и *S. aureus*, в половине случаев подавлялся рост *Enterobacter* spp., *E. coli* с измененными ферментативными свойствами и *Citrobacter* spp.

Выявленные различия в антагонистической активности пробиотиков свидетельствуют, с одной стороны, о том, что каждый из них обладает индивидуальным спектром антагонистического действия, а, с другой стороны, указывает на отсутствие универсальной методики определения антагонистической активности и трактовки результатов. Следовательно, рутинное применение пробиотиков в клинической практике в расчете на их общеизвестную антагонистическую активность для элиминации УПМ может оказаться безуспешным. В связи с этим до назначения пробиотика необходимо определять чувствительность к нему микроорганизмов, размножение которых предполагается подавить.

К сожалению, положительный эффект пробиотиков даже при длительном применении носит транзиторный характер и заканчивается при отмене препарата [6]. Одной из главных причин неэффективности пробиотиков может быть чужеродность микроорганизмов для человека. К факторам, определяющим приживление или элиминацию пробиотических микроорганизмов относятся биологические свойства самих пробиотических лакто- и бифидобактерий и индигенных представителей кишечной микрофлоры. Взаимоотношения между пробиотиками и индигенной флорой могут быть антагонистические, синергид-

ные, индифферентные. Оценку взаимоотношений лактобацилл, входящих в состав коммерческих пробиотических препаратов, и индигенных лакто- и бифидобактерий, выделенных от пациентов с дисбиозом толстого кишечника, определяли методом совместного культивирования на плотной питательной среде [4]. В работе использовано 6 культур индигенных лактобацилл и 2 культуры индигенных бифидумбактерий. Индигенными считались микроорганизмы, которые обнаруживались в фекалиях человека в количестве не менее 10^{5-6} КОЕ/г [4]. Метод исследования аналогичен методу прямого совместного культивирования при определении антагонистической активности [3]. Совместное культивирование выявило 2 типа взаимодействия между индигенными и пробиотическими культурами: отсутствие антагонизма (биосовместимость) и подавление роста индигенной флоры (бионесовместимость по типу «пробиотик против хозяина»). При биосовместимости отмечался рост двух исследуемых культур, сходный с ростом в контроле. 88,9% индигенных штаммов были биосовместимы с препаратами «Лактобактерин» («Микроген Биомед», Пермь) и «Лактобактерин» («Имбио», Н. Новгород). Лактобактерии из препарата «Нормофлорин – Л» и *L. casei* оказались биосовместимыми с 77,8% индигенных культур. Эксперимент показал, что коммерческие пробиотические препараты и индигенные микроорганизмы могут проявлять антагонизм в отношении друг друга. Можно предположить, что в условиях *in vivo* при введении больших концентраций пробиотических лактобацилл, эти микроорганизмы могут вызвать дисбаланс в индигенной лакто- и бифидумфлоре хозяина. Возможно, для выбора того или иного пробиотика следует предварительно исследовать взаимоотношения пробиотиков с индигенными микроорганизмами пациента, которому предполагается назначить препарата. Это позволит отбирать наиболее эффективные для данного больного пробиотики с минимальным отрицательным воздействием на нормальную микрофлору кишечника.

Список литературы

1. Арзуманян В.Г., Михайлова Н.А., Гайдеров А.А. и др. Количественный способ оценки отсроченного антагонизма пробиотических культур против оппортунистических дрожжей // Журн. Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 6. – С. 53–54.
2. Блинкова Л.П. Бактериоцины: критерии, классификация, свойства, методы выявления // Журн. микробиологии. – 2003. – № 3. – С. 109–113.
3. Глушанова Н.А., Блинов А.И., Бахаев В.В. Об антагонизме пробиотических лактобацилл // Журн. Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2004. – № 6. – С. 37–39.
4. Глушанова Н.А., Шендеров Б.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro*. // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2005. – № 2. – С. 58.
5. Ермоленко Е.И., Исаков В.А. и др. Количественная оценка антагонистической активности лактобацилл // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2004. – № 5. – С. 94–98.

6. Лесняк С.В., Евтухова Л.Н., Шимчук Л.Ф. О свойствах препаратов из нормальной микрофлоры человека. В: С.М. Навашин, Б.А. Шендеров (ред.). Антибиотики и микророзкология человека и животных. – М., 1988. – С. 136–140.

7. Постникова Е.А., Ефимов Б.А. и соавт. Поиск перспективных штаммов бифидобактерий и лактобацилл для разработки новых биопрепаратов // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2004. – № 2. – С. 66.

8. Осипова И.Г., Михайлова Р.А., Сорокулова И.Б., Васильева Е.А., Гайдеров А.А. Споровые пробиотики // Журн. микробиологии. – 2003. – № 3. – С. 113–119.

9. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника: Информационное письмо. – СПб, 2002. – 31 с.

© Е.Ю. Еремина, О.А. Строкова, 2008

© E.J. Eremina, O.A. Strokov, 2008

ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОНКОЙ КИШКИ У БОЛЬНЫХ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА, СТРАДАЮЩИХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ

Е.Ю. Еремина, О.А. Строкова

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, Россия

Еремина Е.Ю. Изменения структуры слизистой оболочки тонкой кишки у больных хроническим панкреатитом // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 157–159.

ГОУВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, улица Большевикская, 68, телефон (8342) 47-68-85

Резюме. Исследовалась структура слизистой оболочки тонкой кишки у больных пожилого возраста, страдающих хроническим панкреатитом. Исследование биоптатов слизистой оболочки тонкой кишки, полученных во время диагностического эндоскопического исследования, проводилось методами световой и электронной микроскопии. В исследовании показано, что поражение элементов щеточной каймы эпителия кишечных ворсинок является структурной основой нарушения кишечного пищеварения у данных пациентов. Нарушение структуры щеточной каймы проявлялось в виде уменьшения толщины и электронной плотности гликокаликса, деформации, фрагментации и укорочения микроворсинок, а также изменения внутриклеточных структур энтероцитов. Полученные результаты расширяют представления о характере нарушения кишечного пищеварения при хроническом панкреатите, что создает предпосылки для совершенствования диетической и медикаментозной терапии у данных пациентов.

Ключевые слова: хронический панкреатит, ультраструктура, пожилой возраст

Eremina E.J., Strokov O.A. Change of structure of a mucosa of a small bowel at sick of a chronic pancreatitis // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 157–159.

Mordovia State University, Saransk. 68, Bolshevistskaya St., Saransk, Russia. Phone: 8342476885

Summary. The structure of a mucosa of a small bowel at patients of advanced age, suffering was investigated by a chronic pancreatitis. Research biopates a mucosa of the small bowel, received during diagnostic endoscopic research, was spent by methods light and a submicroscopy. In research it is shown, that the lesion of elements of a brush border of an epithelium of intestinal villuses is a structural basis of disturbance of intestinal digestion at the given patients. Disturbance of structure of a brush border was shown in the form of reduction of a thickness and electron density glicocalixi, deformations, fragmentations and shortings of microvillisi, and also changes of intracellular structures of enterocytes. The received results dilate representations about character of disturbance of intestinal digestion at a chronic pancreatitis that frames preconditions for perfection of dietary and medicamental therapy of elderly patients.

Key words: a chronic pancreatitis, a metastructure, advanced age

Проблема хронического панкреатита в мировой литературе посвящено множество научных работ, но на сегодняшний день остается много неясного в отношении состояния структуры слизистой оболочки тонкой кишки при данной патологии. Хронический панкреатит является заболеванием пациентов старшего возраста [3], у которых данная патология протекает с преобладанием клинических симптомов энтеральной недостаточности [1].

Целью исследования явилось изучение ультраструктуры слизистой оболочки тонкой кишки у больных хроническим панкреатитом пожилого возраста.

Материал и методы исследования. Исследование биоптатов слизистой обо-

лочки тонкой кишки (СОТК) методами световой и электронной микроскопии проведено у 29 больных хроническим панкреатитом. Средний возраст обследованных в данной группе составил $63,2 \pm 4,4$ года. Во вторую группу вошли 19 пациентов. Средний возраст в этой группе составил $40,2 \pm 2,2$ года. Группу сравнения составили 14 практически здоровых лиц, не имеющих заболеваний поджелудочной железы и патологии тонкого кишечника. Биоптат слизистой оболочки тонкой кишки получали во время проведения диагностического эндоскопического исследования. Для проведения электронномикроскопического исследования фиксацию биоптатов осуществляли погружением в 2% раствор параформа с 2% раствором глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,2) на 12–24 часа при температуре 4–5°C. Затем материал

промывали 0,15 М (рН 7,2) фосфатным буфером (3 смены по 30 минут), дофиксировали 1% раствором осмиевой кислоты на 0,2 М фосфатном буфере (рН 7,2) – 2 часа, при температуре 4–5 °С. Для обезвоживания кусочки постепенно проводили через спирты возрастающей концентрации до абсолютного этанола (от 50% до 100% – 3 смены по 30 минут), затем использовали 2 смены ацетона. Перед заливкой проводили пропитку материала в смеси эпоксидных смол с ацетоном в соотношении 1:1 в течение 24 часов. Для полного замещения органических растворителей кусочки помещали в чистую заливочную смесь без ацетона на 30 минут при 50–60 °С. Полимеризацию, проводили в течение 2 суток при 50–60 °С.

Перед приготовлением ультратонких срезов делали полутонкие срезы, которые окрашивали толуидиновым синим. После обнаружения в полутонких срезах наиболее интересных участков получали ультратонкие срезы. Для их получения использовали ультрамикротом Ultracut – Reichert, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, затем просматривали в электронном микроскопе ЭМВ – 100Б и ЭМ – 125 при ускоряющем напряжении 75–80 кВ. Качественную и количественную оценку проводили на микрофотографиях.

Особое внимание при изучении структуры всасывающего эпителия уделялось средней трети ворсинок, поскольку в этой части ворсинки, закончившие дифференцировку, энтероциты включаются в процесс мембранного пищеварения, имея для этого весь спектр необходимых ферментов [2].

При светомикроскопическом исследовании биоптатов из начальных отделов тощей кишки у больных хроническим панкреатитом ($n = 29$) были обнаружены патоморфологические изменения СОТК, которые в 48,3% случаев характеризовались признаками хронического еюнита и еюнита с элементами атрофии – у 15 больных (51,7%). У последних отмечалось прогрессирующее снижение высоты ворсинок до 198 мкм, их утолщение, увеличение расстояния между ними; подэпителиальный отек с отслойкой эпителия на апикальной поверхности ворсинок: утолщение криптальной зоны; умеренная лимфо-плазмоцитарная инфильтрация собственного слоя СОТК. В собственной пластинке СОТК на уровне основания ворсинок наблюдалось разрастание соединительной ткани с фиброзными изменениями отдельных крипт. Число бокаловидных клеток на ворсинках и клеток Панета на дне крипт было уменьшено: бокаловидных клеток до 11 ± 2 на ворсинку при норме 23 ± 4 , клеток Панета – до 4 ± 2 на крипту при норме 5 ± 1 .

Методом электронной микроскопии СОТК были выявлены ультраструктурные изменения, заключающиеся в разрежении, истончении, фрагментации, распаде микроворсинок, исчезновении гликокаликса, отслойке апикальной мембраны, появлении на апикальной поверхности цитоплазматических выростов при одновременном уменьшении числа микроворсинок (рис. 1), нарушении координации пролиферации и

дифференцировки энтероцитов. При электронномикроскопическом исследовании биоптатов СОТК на уровне средней части ворсинок без признаков атрофии найдены очаговые изменения в виде умеренного расширения и фрагментации профилей эндоплазматической сети, набухания митохондрий. В цитоплазме энтероцитов – значительное число аутофагосом и значительное количество мультивезикулярных телец в апикальной ее части. При атрофии СОТК эпителий ворсинок был представлен в основном «молодыми», дистрофически измененными энтероцитами с расширенными и фрагментированными профилями эндоплазматического ретикула, расширенными перинуклеарными пространствами, нарушена упорядоченность расположения микроворсинок, отмечается их разрежение, деформация, фрагментация и везикуляция, гликокаликс истончен.

Изменения внутриклеточных структур энтероцитов заключались в уменьшении количества митохондрий, расширении и фрагментации цистерн шероховатого эндоплазматического ретикула. Изменения митохондрий характеризовались различием их формы, набуханием и (или) просветлением матрикса с частичным или полным лизисом крист, в ряде случаев – их вакуолизацией и разрывом мембраны мито-

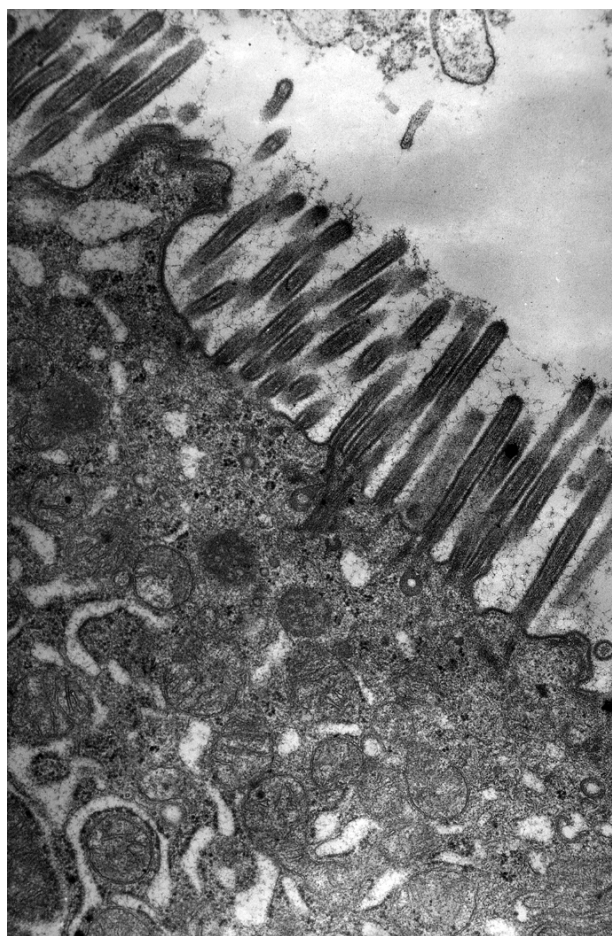


Рис. 1. Ультраструктура энтероцита средней части ворсинки у больного хроническим панкреатитом $\times 23000$

хондрий. Данные изменения способствуют нарушению синтеза белка, входящего в состав слизистой оболочки тонкой кишки и кишечных ферментов.

Структура щеточной каемки у большинства больных хроническим панкреатитом старшей возрастной группы была нарушена повсеместно, по сравнению с пациентами более молодого возраста. Как правило, изменения в зоне щеточной каемки наблюдались при наличии атрофических изменений в СОТК. Нарушение структуры щеточной каемки обуславливает снижение сорбции ферментов, участвующих в мембранном гидролизе, нарушение их транслокации на наружную поверхность щеточной каймы, ведущее к нарушению гидролиза пищевых веществ. Все это позволяет считать, что в основе преобладания симптомов нарушенных кишечных функций, наблюдаемых у пожилых больных хроническим панкреатитом, лежат патологические изменения ультраструктуры щеточной каймы.

У обследованных больных выявлялось уменьшение толщины и электронной плотности гликокаликса, вплоть до полного исчезновения в некоторых местах. Все это свидетельствовало о нарушении полноценных синтетических процессов в энтероцитах крипт и нижней части ворсинок, что связано с активной пролиферацией и ускоренной миграцией малодифференцированных энтероцитов на ворсинку из генеративной криптальной зоны. Принимая во внимание тот факт, что гликокаликс является структурой, участвующей в

регуляции взаимоотношений между процессами пищеварения и всасывания, следовательно, редукция гликокаликса ведет к рассогласованности данных процессов и появлению клинических проявлений энтеральной недостаточности.

З а к л ю ч е н и е . Появление и прогрессирование симптомов энтеральной недостаточности у пациентов хроническим панкреатитом в старшем возрасте связано с нарушением ультраструктуры слизистой оболочки тонкой кишки, которое отмечалось повсеместно, по сравнению с пациентами молодого возраста. Поражение элементов щеточной каймы эпителия кишечных ворсинок является структурной основой нарушения кишечного пищеварения у обследованных пациентов. Оно проявлялось в виде уменьшения толщины и электронной плотности гликокаликса, деформации, фрагментации и укорочения микроворсинок, а также изменения внутриклеточных структур энтероцитов.

Список литературы

1. Еремина Е.Ю., Ткаченко Е.И. Системные проявления болезней органов пищеварения / ISBN 5-7493-0544-9. – Самара, 2003. – 200 с.
2. Тимофеева Н.М. Гидролазы тонкой кишки // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – № 1. — С. 41–47.
3. Яхонтова О.И. Практическая гастроэнтерология / О.И. Яхонтова, Л.Н. Валенкевич, Я.М. Рутгайзер. – Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 1997. – 256 с.

ВЫСОКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ

HIGH TECHNOLOGIES IN MEDICINE

© А.Н. Наровлянский, М.Ю. Ледванов, Н.В. Кремень, Н.А. Семеняко, М.Г. Романцов, М.В. Мезенцева, И.В. Фолитар, 2008

© A.N. Narovlyanskiy, N.V. Kremen, N.A. Semenyako, M.G. Romantsov, M.V. Mezentsseva, I.V. Folitar, 2008

ИММУНОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НАЗНАЧЕНИЯ ИММУНОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ HCV-ИНФЕКЦИИ

А.Н. Наровлянский², М.Ю. Ледванов¹, Н.В. Кремень¹, Н.А. Семеняко¹,
М.Г. Романцов¹, М.В. Мезенцева², И.В. Фолитар¹

¹Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия

²Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи
Российской академии медицинских наук, Москва, Россия

Наровлянский А.Н., Кремень Н.В., Семеняко Н.А., Романцов М.Г., Мезенцева М.В., Фолитар И.В. Иммунопатогенетические аспекты назначения иммуноотропных препаратов при HCV –инфекции // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С.160–164.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУВПО СПб ГМА им. И.И. Мечникова Росздрава), 195067, Санкт-Петербург, К-67, Пискаревский пр., 47, тел. /факс: 8 (812) 717-27-07, тел. (812) 543-96-09, факс: (812) 140-15-24 Эл. почта: mechnik@westcall.net; www.mechnik.spb.ru

Государственное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Российской академии медицинских наук, Россия, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18, телефон: 8-495-193-43-06

Р е з ю м е . Вирусный гепатит С (ВГС) является иммуноопосредованной инфекцией, при которой повреждение гепатоцитов наступает вследствие реализации как прямого цитопатического эффекта вируса, так и вследствие иммунологически опосредованного повреждения, которое реализуется при взаимодействии цитотоксических лимфоцитов с клетками печени содержащими вирус. В защите организма от инфекций участвуют интерфероны (ИФН) 1-го и 2-го типов, которые, как показали многочисленные исследования, обладают противовирусной и иммуномодулирующей активностью. В этой связи, для оценки иммунного статуса и формирования оптимальных схем лечения было обследовано 30 больных хроническим гепатитом С (ХГС), которые обследовались клинически, биохимически, вирусологически и иммунологически. Проведенное исследование позволило установить наличие у больных ХГС разнонаправленных иммунологических процессов, приводящих к отличной от нормы картине цитокинового спектра, свидетельствующей о дисрегуляции цитокиновой и иммунной системы. Наблюдалось снижение синтеза обоих типов ИФН (α и γ) с отсутствием синтеза мРНК ИФН-α и ИФН-γ у 52,0% и 67,0% больных соответственно. В процессе лечения имело место увеличение числа больных с наличием гена мРНК к ИФН-α и ИЛ-18; увеличение больных, позитивных по мРНК ИФН-γ, и сохранение числа больных, позитивных по мРНК ИЛ-1, –8, –10.

Частота быстрого вирусологического ответа через 4 недели терапии у больных чувствительных к Ингарону и Альфарону при Th1-типе иммунного ответа составила 85,3%. При превалировании Th2-типа иммунологических реакций быстрого вирусологического ответа получено не было.

У лиц не чувствительных к используемым препаратам эффективность терапии была ниже. Так, стойкий вирусологический ответ у лиц, имеющих чувствительность к используемым препаратам, при назначении комбинированной терапии составил 73,3%, а у больных не чувствительных к данным препаратам – 50,0%.

К л ю ч е в ы е с л о в а : хронический гепатит С, интерферон-альфа, интерферон-гамма, интерфероновый статус, Ингарон, Альфарон, цитокиновый профиль, эффективность терапии.

Narovlyansky A.N., Kremen N.V., Semenyako N.A., Romantsov M. G. Mezentseva M.V., Folitar I.V. Immunopatogenetic aspects of immunotropic medicine prescription in HCV-infection // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 160–164.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», Russia, 195067, St.-Petersburg, K-67, Piskarevsky prospect, 47, phone/fax: 8 (812) 717-27-07, tel. (812) 543-96-09, fax: (812) 140-15-24, e-mail: mechnik@westcall.net; www.mech-nik.spb.ru,

State Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya of RAMS, Russia, 123098, Moscow, str. Gamaleya, 18, tel.: 8-495-193-43-06

S u m m a r y . Viral hepatitis C is an immune infection with hepatic impairment due to both direct cytopathic viral action and immune reactions realized by interaction between cytotoxic lymphocytes and hepatic cells containing virus. Interferons I and II types appeared in numerous studies to participate in human infectious defense and to possess antiviral and immunomodulatory effects. That is why 30 chronic hepatitis C patients were studied for the assessment of immune status and optimal treatment schemes forming. Examination included clinical, and laboratory, both immunologic and virologic tests. The investigation allowed us to reveal the different immune processes leading to pathologic cytokine pattern showed immune and cytokine system dysregulation. Decrease of IFN alpha and gamma production was observed with mRNA of IFN alpha and IFN gamma synthesis absence in 52,0% and 67,0% respectively. The raised number of patients with mRNA gene of IFN alpha and IL-18, the raised number of mRNA IFN gamma positive patients and the persisted number of patients with mRNA IL-1, IL-8 and IL-10 were observed.

Rapid virologic response in 4 weeks of therapy in the patients susceptible to Ingaron and Alpharona with Th1 type immune response was observed in 85.3%. Th2 type immune reactions of rapid virologic response were absent.

Therapy benefits were lower in patients without susceptibility to prescribed preparations. Thus sustained virologic response was 73,5% in patients susceptible to these drugs in combined therapy and 50,0% in non-susceptible patients.

K e y w o r d s : chronic hepatitis C, interferon alpha, interferon gamma, interferon state, Ingaron, Alpharona, cytokine pattern, therapy benefit.

Вирусный гепатит С (ВГС) является прогрессирующей хронической инфекцией с постоянным ростом заболеваемости как во всем мире, так и в Российской Федерации. Если показатель так называемого «носительства» вируса гепатита С в 1999 г. составлял 93,5 на 100 тыс. населения, то в 2005 г. он уже составил 104,8 на 100 тыс. населения [4, 8, 10].

Важнейшей особенностью HCV-инфекции является длительное течение, растягивающееся на многие годы, которое впоследствии принимает характер медленной инфекции с высокой частотой развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Хронический гепатит С (ХГС) является иммуноопосредованной инфекцией, при которой повреждение гепатоцитов наступает вследствие реализации как прямого цитопатического эффекта вируса, так и вследствие иммунологически опосредованного повреждения, которое реализуется при взаимодействии цитотоксических лимфоцитов с клетками печени, содержащими вирус. Кроме того, при ХГС развиваются аутоиммунные реакции, связанные с высоким сходством белковых структур вируса и клеток печени. Основную роль в патогенезе HCV-инфекции играет Т-клеточное звено иммунитета и от его направленности зависит как исход заболевания, так и характер его течения в целом [1, 6, 7]. В защите организма от инфекций участвуют интерфероны ИФН 1 типа (ИФН-α), которые, как показали многочисленные исследования, обладают противовирусной и иммуномодулирующей активностью. Их противовирусная активность связана с экспрессией генов 2'-5'-олигоденилатсинтетазы, сАМР-зависимой протеинкиназы, Мх-белка и др. Белковые продукты этих генов определяют клеточную резистентность макроорганизма, ингибируя репликацию вируса, препятствуют его диссеминации. ИФН-α обладают также выраженным иммунорегуляторным действием, модулируя продукцию антител. Кроме того, ИФН-α повышают клеточную цитотоксичность Т-лимфоци-

тов и естественных киллеров, ингибируя пролиферативную их активность. ИФН-α способствуют преимущественной дифференцировке Т-хелперов в Th1-лимфоциты. Дендритные клетки (ДК) при вирусных и бактериальных инфекциях, так же как и плазмоцитидные моноциты, продуцируют ИФН-α. Следовательно, противовирусная и антибактериальная защита зависит не только от активности макрофагального звена иммунитета, но и от активности ДК. Защита макрофагов и дендритных клеток от вирусов предотвращает развитие фатального синдрома системного воспалительного ответа, характеризующегося высвобождением провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12, ИФН-γ, ФНО-α). Цитокины регулируют не только продукцию ИФН-α/β, но и индуцируют «противовирусное состояние», которое характеризуется как подавлением вирусной репликации, так и усилением способности клеток лизировать инфицированные вирусом клетки [2, 7, 9, 14].

Если ИФН 1-го типа принимают непосредственное участие в защите от вирусов, то ИФН 2-го типа (ИФН-γ) в иммунной системе занимает более высокое иерархическое положение, влияя на процессы специфического и неспецифического клеточного иммунитета. Гамма-интерферон справедливо называют «иммунным интерфероном». Под влиянием ИФН-γ Т-лимфоциты с хелперной направленностью приобретают способность синтезировать, кроме ИФН-γ, интерлейкин (ИЛ) 2, 12 и ряд других цитокинов, потенцирующих клеточный иммунитет (Th1-иммунный ответ). Активированный рецептор ИФН-γ взаимодействует с транскрипционным регуляторным фактором STAT-1 и двумя типами протеинкиназ, которые и фосфорилируют STAT-1, приводя его к димеризации, в такой форме он способен транспортироваться в клеточное ядро и связываться с регуляторными последовательностями генов, вовлеченных в клеточный ответ на данный стимул. Результатом активации этих генов

является формирование клеточной защиты от вирусной инфекции, включением синтеза ИЛ-12, важнейшего партнера ИФН- γ в противостоянии вирусным инфекциям [3, 5, 10, 11, 14].

Многое в механизмах иммунорегуляции интерферонов остается неизученным, но биологическая роль интерферонов, по мнению ряда авторов, зависит от интенсивности их продукции в организме и клеточной чувствительности к ИФН. Если продукция ИФН- α индуцирована слабыми индукторами ИФН (к которым относится и HCV), то экспрессия ИФН- α ограничивается первично стимулированными лимфоцитами и дендритными клетками. В этом случае обнаруживаются ИФН- α и ИЛ-12, который способствует экспрессии рецептора ИФН- α . Параллельно CD4+ и CD8+ лимфоцитами увеличивается и продукция ИФН- γ . При низкой продукции ИФН- α происходит индукция ответа CD4+-лимфоцитов по типу Th1, а если антиген представлен на молекулах МНС 1 класса, то CD8+ Т-лимфоциты продуцируют и гамма-интерферон [7, 12, 13]. Выздоровление может наступить лишь в случае активации Th1-лимфоцитов, которые обеспечивают должный уровень ИФН- γ , ИЛ-2 и ФНО- β . В элиминации возбудителя важнейшую роль играет Т-клеточный ответ с формированием популяции антигенспецифических Th1-хелперов CD4+ и антигенспецифических МНС-рестриктированных цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+, именно от баланса цитокинов зависит эффективность противоинфекционной защиты [1, 6, 10, 12].

Клинические наблюдения свидетельствуют о том, что повышенная продукция Th1-цитокинов, в частности, ИФН- γ и ФНО- β , необходима для активной защиты от инфекции вирусом гепатита С. В то же время активация Th2-цитокинов, подавляет иммунные реакции в организме, что способствует длительной персистенции возбудителя и создает условия для формирования хронического патологического процесса.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я . Оценить тип иммунного ответа у больных хроническим гепатитом С для прогнозирования исходов заболевания и для формирования оптимальных схем лечения каждого конкретного больного.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . Для изучения механизмов регуляторного цитокинового ответа и направленности иммунологических реакций было обследовано 30 больных ХГС с умеренной активностью патологического про-

цесса и выраженной репликативностью HCV. Все пациенты были лицами мужского пола со средним возрастом $31,4 \pm 4,7$ лет. Тяжелых сопутствующих заболеваний, а также алкогольной и наркотической зависимости не было ни у одного человека. Все больные обследовались клинически, биохимически и вирусологически с определением уровня вирусной нагрузки методом количественной PCR на старте терапии и в динамике заболевания. Кроме того, проводилось изучение цитокинового профиля на старте терапии и через месяц от начала лечения, когда оценивался быстрый вирусологический ответ (БВО). Длительность заболевания у больных колебалась от 1,5 до 6 лет, в среднем 3,9 года. Уровень вирусной нагрузки на старте терапии колебался от $1 \cdot 10^3$ до $1 \cdot 10^6$ МЕ/мл.

В предыдущих исследованиях авторов установлено влияние лекарственных препаратов, в частности ИФН- α , ИФН- γ , индукторов интерферонов, на экспрессию генов цитокинов в мононуклеарах периферической крови у больных ХГС, а также на динамику изменения спектра важнейших цитокинов [2, 4]. Большинство цитокинов являются типичными индукцибельными медиаторами и в постнатальном периоде, как правило, вне воспалительной реакции не синтезируются клетками. Вместе с тем, некоторые цитокины в результате конститутивной экспрессии генов частично синтезируются в организме, регулируя пролиферацию и дифференцировку отдельных клеток в течение всей жизни. Цитокины участвуют в регуляции нормальных физиологических реакций организма. Кроме того, они принимают активное участие при развитии воспалительных реакций на местном и системном уровне, обеспечивая общую защиту организма и регуляцию процессов регенерации тканей [7, 12]. Авторами выявлена позитивная экспрессия генов ФНО- α и ИЛ-12 в мононуклеарах периферической крови у 75% и 70% здоровых доноров соответственно, что свидетельствует о важной регуляторной роли этих цитокинов.

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я и и х о б с у ж д е н и е . При обследовании 30 больных ХГС выявлено резкое снижение частоты встречаемости указанных выше цитокинов (ФНО- α и ИЛ-12) (табл. 1). Можно предположить, что отсутствие экспрессии генов цитокинов ФНО- α и ИЛ-12 приводит к дисрегуляции иммунитета и формированию иммунологических реакций по супрессивному типу.

Таблица 1

Синтез мРНК у больных хроническим гепатитом С и здоровых доноров

мРНК цитокинов	Частота выявляемости мРНК цитокинов у здоровых доноров, % (n = 100)	Частота выявляемости мРНК цитокинов у больных ХГС, % (n = 30)	Кратность изменения показателя у больных ХГС в сравнении со здоровыми донорами
ИФН- α	5.0	48.0	+9.6
ИФН- γ	30.0	33.0	+1.1
ФНО- α	75.0	45.0	-0.6
ИЛ-1	35.0	41.0	+1.2

Таблица 1 (продолжение)

Синтез мРНК у больных хроническим гепатитом С и здоровых доноров

мРНК цитокинов	Частота выявляемости мРНК цитокинов у здоровых доноров, % (n = 100)	Частота выявляемости мРНК цитокинов у больных ХГС, % (n = 30)	Кратность изменения показателя у больных ХГС в сравнении со здоровыми донорами
ИЛ-2	5.0	43.0	+8.6
ИЛ-4	5.0	17.0	+3.4
ИЛ-6	20.0	44.0	+2.2
ИЛ-8	10.0	7.0	-0.7
ИЛ-10	20.0	32.0	+1.6
ИЛ-12	70.0	41.0	-1.7
ИЛ-18	30.0	45.0	+1.5

Как видно из представленной таблицы, повышение экспрессии генов цитокинов ИФН-α, ИЛ-2, -4, -6, -10, -18 встречалось в 1,5–8,6 раз чаще у больных ХГС, чем у здоровых доноров, что свидетельствует о возможной активации лимфоцитов Th1 типа. Снижение синтеза мРНК ИЛ-8 на фоне повышения экспрессии генов ИЛ-10 и -6 может быть результатом угнетения активности макрофагального звена иммунитета и стимуляции лимфоцитов Th2 типа. Активация лимфоцитов Th2 типа является прогностически неблагоприятным признаком, свидетельствующим о наличии длительно текущей персистирующей инфекции. Кроме того, возможно, что тенденция к усилению встречаемости (+1,2) экспрессии генов ИЛ-1 в группе больных ХГС может указывать на антигенную стимуляцию организма, посредством поступления сигнала от макрофагов к Т-лимфоцитам в процессе первичного антигенного распознавания. Снижение частоты определения синтеза мРНК ИЛ-12 (в 1,7 раза) с одновременным падением встречаемости (-0,6) синтеза мРНК ФНО-α, по-видимому, также свидетельствует о выраженной супрессии активности цитолитических Т-лимфоцитов, НК-клеток и макрофагов, индуцирующих продукцию ИФН-γ.

Таким образом, проведенное исследование позволило установить, что у больных ХГС происходят разнонаправленные процессы, приводящие к отличной от нормы картине цитокинового спектра, свидетельствующей о дисрегуляции цитокиновой и иммунной систем.

Анализируя данные о продукции ИФН у больных ХГС, установлено снижение синтеза обоих типов ИФН (α и γ) с отсутствием синтеза мРНК ИФН-α и -γ у 52,0% и 67,0% больных соответственно. Отсутствие синтеза мРНК интерферонов обоих типов может указывать на возможную блокировку их на уровне транскрипции. В этой связи, представляется целесообразным включение в комплексную терапию больных ХГС экзогенных ИФН-α и -γ. Для проведения исследования на доказательном уровне проведена оценка чувствительности организма больных ХГС к ИФН-α и -γ методом интерфероновой прайминга. Как показали исследования, абсолютное большинство больных имели высокую чувствительность к отечественному препарату Альфарона и препарату Ингарон. Вместе с тем, к препарату Ингарон чувствительность проявляли практически все больные (табл. 2).

Таблица 2

Чувствительность больных к препаратам интерферона на старте терапии

Препараты, число больных n = 30	Число больных/процент выявленных пациентов, чувствительных к препаратам	Число больных/процент выявленных пациентов, не чувствительных к препаратам
ИФН-α (Альфарона)	19/63,3	11/36,7
ИФН-γ (Ингарон)	22/73,3	8/26,7

Чувствительность к обоим типам интерферонов, продемонстрировали 68,3% обследованных. Таким образом, назначение Альфарона и Ингарона представлялось целесообразным.

У данной категории больных проведено изучение цитокинового профиля на старте терапии и через 4 недели от начала лечения. Полученные данные сопоставлялись с результатами противовирусного ответа. В процессе лечения наблюдалось увеличение числа

больных с наличием гена мРНК к ИФН-α и ИЛ-18; кроме того, увеличивался процент больных, позитивных по мРНК ИФН-γ, и сохранялся процент больных, позитивных по мРНК ИЛ-1, -8, -10 на фоне сохранения чувствительности этих больных к препаратам интерферонотерапии.

Быстрый вирусологический ответ через 4 недели терапии у больных чувствительных к Ингарону и Альфарону при Th1 типе иммунного ответа наблюдался у

85,3%. При превалировании Th-2 типа иммунологических реакций быстрого вирусологического ответа получено не было.

При проведении сравнительного анализа эффективности терапии больных ХГС, у которых предварительно определялась чувствительность к противовирусным препаратам и без определения чувствительности, установлено, что у лиц не чувствительных к используемым препаратам эффективность терапии была ниже. Так, стойкий вирусологический ответ при назначении комбинированной терапии составил 73,3% у лиц, имеющих чувствительность к используемым препаратам и 50,0% – у больных не чувствительных к данным препаратам.

З а к л ю ч е н и е . В результате проведенного исследования установлено, что для достижения максимального эффекта следует менять методический подход к лечению больных ХГС, внедряя в медицинскую практику методику определения иммунологических параметров, позволяющих оценить характер течения заболевания и его исходы. Кроме того, созрела необходимость в персонализации терапии с подбором лекарственных препаратов и оптимальных схем лечения для каждого конкретного пациента.

Список литературы

1. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – М. – 2003. – С. 98–109.
 2. Ершов Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии. – М., Медицина, 1996. – 240 с.
 3. Киселев О.И., Ершов Ф.И. Интерферон-гамма: новый цитокин в клинической практике. – М. – 2007. – С. 15–46.
 4. Наровлянский А.Н., Амченкова А.М., Мезенцева М.В., Ершов Ф.И. Клеточная чувствительность к действию интерферона при различных формах вирусной патологии // Вопросы вирусологии. – 2000. – № 3, – С. 20–25.
 5. Носик Н.Н. Интерфероны и противовирусный иммунитет. // Интерферону – 50 лет. Материалы научной конференции / Под редакцией академика Ф.И. Ершова. – М., 2007. – С. 72–81.
 6. Романцов М.Г., Сологуб Т.В., Шульдяков А.Н., Комиссаров С.В. «Тройная» терапия хронического вирусного гепатита С у пациентов с генотипом 1b // Врач. – 2006. – № 7. – С. 1–4.
 7. Серебряная Н.Б., Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Семейство интерферонов 1 типа // Цитокины. – СПб., 2008. – С. 23–41.
 8. Сологуб Т.В., Баранова И.П., Коваленко С.Н., Шульдяков А.А., Романцов М.Г. Оптимизация «золотого стандарта» в лечении больных хроническим вирусным гепатитом С // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2006. – № 4. – С. 124–130.
 9. Фрейдлин И.С., Толоян А.А. Клетки иммунной системы. – СПб. – 2001, С. 55–72, 81–98.
 10. Эпштейн О.И., Штарк М.Б., Дыгай А.М. Биологические эффекты регуляторов физиологических функций. Интерферон-гамма // Фармакология сверхмалых доз антигенов к эндогенным регуляторам функций. – М., 2005. – С. 56–67.
 11. Katayama K., Kasahara A., Sasaki Y., et al. Immunological response to interferon-gamma priming prior to interferon alpha treatment in refractory chronic hepatitis C in relation to viral clearance. // Viral Hepat. – 2001. – Vol. 8. – № 3. – P. 180–185.
 12. Samuel C.E. Antiviral actions of interferons. // Clinical Microbiology review. – 2001. – Vol. 123. – № 1. – P. 209–216.
 13. Wang T., Seiwert S. Immunomodulatory activities of IFN-gamma1b in the treatment of chronic HCV infections. // Interferon Cytokine Res. – 2006. – Vol. 26. – № 7. – P. 473–483.
 14. Zeuzem S. The American association For the Study of Liver Diseases: new perspectives in the treatment of hepatitis C. // Antivir. Ther. – 2006. – Vol. 11. – № 2. – P. 267–271.
- © М.К. Ерофеева, И.Ю. Никоноров, В.Л. Максакова, Е.А. Охупкина, В.С. Вакин, Е.М. Войцеховская, А.А. Васильева, Е.Г. Головачева, М.Г. Позднякова, Е.В. Кузнецова, 2008
- © М. К. Yerofeeva, I. Yu. Nikonorov, V.L. Maksakova, E.A. Okhupkina, V.S. Vakin, E.M. Voytsekhovskaya, A.A. Vasilieva, E.G. Golovacheva, M.G. Pozdnyakova, E.V. Kuznetsova, 2008

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ, РЕАКТОГЕННОСТЬ БЕЗОПАСНОСТЬ И ИММУНОГЕННОСТЬ НОВОЙ ГРИПОЗНОЙ ВАКЦИНЫ ГРИФОР® ПРИ ОДНОКРАТНОЙ ИММУНИЗАЦИИ ВЗРОСЛЫХ ОТ 18 ДО 60 ЛЕТ

М.К. Ерофеева, И.Ю. Никоноров, В.Л. Максакова, Е.А. Охупкина, В.С. Вакин, Е.М. Войцеховская, А.А. Васильева, Е.Г. Головачева, М.Г. Позднякова, Е.В. Кузнецова
Научно-исследовательский институт гриппа Российской академии медицинских наук,
Санкт-Петербург, Россия

Ерофеева М.К., Никоноров И.Ю., Максакова В.Л., Охупкина Е.А., Вакин В.С., Войцеховская Е.М., Васильева А.А., Головачева Е.Г., Позднякова М.Г., Кузнецова Е.В. Профилактическая эффективность, реактогенность безопасность и иммуногенность новой гриппозной вакцины Грифор® при однократной иммунизации взрослых от 18 до 60 лет. // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 164–167.

ГУ НИИ гриппа РАМН, 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 15/17, тел. /факс: +7 (812) 2346200, e-mail: office@influenza.spb.ru

Резюме. В эпидемический сезон 2007–2008 годов, в условиях слабо выраженного повышения заболеваемости гриппом и ОРВИ в г. Санкт-Петербурге, при иммунизации взрослых 18–59 лет новой российской вакциной Грифор® однократно, внутримышечно, получены данные, свидетельствующие о средней профилактической эффективности вакцины, ИЭ = 1,6, $P < 0,05$. Больных с клиническим диагнозом грипп среди привитых зарегистрировано не было. Вакцинация способствовала более легкому течению заболеваний ОРВИ в группе привитых по сравнению с контрольной группой, осложнения возникали в 1,6 раза реже, и средняя длительность одного случая заболевания была на 1,2 дня короче. Вакцина ареактогенна и безвредна, обладает выраженной иммуногенностью. Напряженность индуцированного гуморального иммунитета сохранялась на достаточно высоком уровне на 90 и 180 дни после иммунизации.

Ключевые слова: грипп, вакцина, Грифор.

Yerofeeva M. K., Nikonorov I. Yu., Maksakova V.L., Okhapkina E.A., Vakin V.S., Voytsekhovskaya E.M., Vasilieva A.A., Golovacheva E.G., Pozdnyakova M.G., Kuznetsova E.V. Prophylactic efficiency, reactivity, safety and immunogenicity of a new influenza vaccine GRIFOP® in single immunization of adults from 18 to 60 years of age // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 164–167.

Research Institute of Influenza RAMS, 197376, St-Petersburg, prof. Popova street, 15/17, tel.: +7 (812) 234-6200, fax: +7 (812) 234-6200, e-mail: office@influenza.spb.ru

Summary. During 2007–2008 epidemic season incidence of influenza and acute respiratory viral infection in St-Petersburg slightly increased. In that period adults from 18 to 59 years were single and intramuscularly vaccinated with Grifor-45. There was shown average vaccine prophylactic efficacy, IE = 1,6, $P < 0,05$. There were no patients with clinical diagnosis influenza among vaccinated people. Immunization promoted mild case of acute respiratory viral infection among vaccinated people as against control group, complications emerged in 1,6 – fold rarer and average duration of one case was on 1,2 days shorter. Researching vaccine «Grifor» was established as non-reactogenic, safety, with well-marked immunogenicity. Tension of humoral induced immunity kept on considerably high level on 90th and 180th day after immunization.

Keywords: influenza, vaccine, Grifor.

Грипп остается серьезной проблемой для здоровья людей. Решение вопроса профилактики гриппа рассматривается ВОЗ в качестве одной из первоочередных задач. На сегодняшний день единственным методом борьбы, сочетающим высокую специфичность, профилактическую эффективность и экономичность, является вакцинация. Эпидемиологическая и экономическая эффективность вакцинации признается всеми ведущими учеными и практиками отечественного и зарубежного здравоохранения.

В ФГУП НПО «Микроген» МЗ и СР РФ разработана вакцина нового поколения – Грифор® – вакцина гриппозная инактивированная расщепленная (сплит), представляющая собой смесь высокоочищенных протективных поверхностных и внутренних антигенов вирусов гриппа типа А (H1N1 и H3N2) и типа В.

Технология приготовления вакцины Грифор® позволила обеспечить презентацию поверхностных антигенов вируса гриппа в виде виросом, а презентацию внутренних антигенов вируса гриппа – в виде мицелл с максимальным сохранением их антигенной активности. Вирусные липиды образуют в сочетании с поверхностными антигенами псевдовирусные структуры – виросомы. Вакцина Грифор® обладает потенциально высокими протективными свойствами. Наличие еще одного высокоэффективного отечественного препарата для специфической профилактики гриппа – это вопрос стратегической безопасности страны.

Результаты доклинического и I – II фаз клинического исследования сплит-вакцины Грифор® на ограниченном контингенте добровольцев показали, что данный препарат для специфической профилактики гриппа по показателям реактогенности, безопасности и иммуногенности соответствует критериям Комитета Патентованных Медицинских Препаратов (Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP EMEA, CPMP/EWP/1045/01) и требованиям Федеральной

службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (МУ 3.3.2.1758-03).

Цели и задачи исследования.

1. Изучить профилактическую эффективность вакцины Грифор® с содержанием НА – 45 мкг/доза – по 15 мкг НА штаммов вирусов гриппа подтипов А (H1N1 и H3N2) и типа В.

2. Оценить и сопоставить характер клинического течения заболевания гриппом среди вакцинированных и не вакцинированных участников исследования.

3. Подтвердить ареактогенность и безопасность препарата.

4. Оценить иммуногенность и напряженность индуцированного иммунитета.

Материалы и методы исследования. Контролируемое, проспективное, рандомизированное клиническое исследование проведено в ноябре 2007 – июне 2008г. г. Основная группа, 1018 добровольцев, была привита вакциной Грифор®. В основной группе была выделена подгруппа – 100 добровольцев, у которых изучали безопасность, иммуногенность и напряженность иммунитета. Контрольная группа составила 1000 человек, не привитых вакциной. Общее количество участников исследования – 2018 добровольцев (мужчины и женщины) в возрасте от 18 до 60 лет.

Характеристика исследуемого препарата. Грифор® – вакцина гриппозная инактивированная расщепленная, раствор для внутримышечного введения. В ампулах препарат представляет собой слабо опалесцирующую бесцветную жидкость. Активные компоненты: антигены, полученные из штаммов вируса гриппа, рекомендованных на эпидемический сезон 2007–2008 г: А/Solomon Islands/3/2006 (H1N1); A/Wisconsin/67/2005 (H3N2); B/Malaysia/2506/2004.

Содержание НА в препарате – 45 мкг/доза. В 1 дозе (0,5 мл) содержится по 15 мкг НА штаммов вируса гриппа подтипов А (H1N1) и (H3N2) и типа В. Производитель: ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ.

Дозировка и способ введения препарата. Вакцину Грифор® вводили однократно внутримышечно в объеме 0,5 мл в дозе 45 мкг НА в дельтовидную область недоминирующей руки.

Сбор данных проводили путем анализа заполненных Индивидуальных регистрационных карт. В течение 7 дней после вакцинации проводили активное наблюдение за добровольцами. С 8 по 21 день после вакцинации добровольцы самостоятельно учитывали местные и общие реакции и фиксировали результаты оценки своего самочувствия в Дневниках самонаблюдения. Нежелательные явления регистрировали в течение всего периода исследования.

У 100 добровольцев подгруппы основной группы до вакцинации, на 21, 90 и 180 дни после вакцинации были изучены: клинический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, уровень IgE в сыворотке крови.

Определение гуморального иммунного ответа на введение вакцины Грифор® проводили в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с куриными эритроцитами, по следующим параметрам: среднегеометрический титр антител к вирусам гриппа типа А (H1N1, H3N2) и типу В на 21, 90 и 180 дни; фактор сероконверсии; уровень серопротекции.

Профилактическую эффективность оценивали по двум показателям:

- ИНДЕКС ЭФФЕКТИВНОСТИ (ИЭ) $K = b/a$, где, K – индекс эффективности, a – заболеваемость среди вакцинированных, b – заболеваемость среди не вакцинированных;

- КОЭФФИЦИЕНТ ЭФФЕКТИВНОСТИ (КЭ) – $E = 100 * (b - a)/b$, где, E – коэффициент эффективности, a – заболеваемость среди вакцинированных, b – заболеваемость среди не вакцинированных.

Оценку заболеваемости гриппом среди вакцинированных и не вакцинированных добровольцев проводили в период с декабря 2007 г. по май 2008 г. Для подтверждения клинического диагноза грипп среди добровольцев выборочно серологически исследовали парные сыворотки крови в первые дни заболевания и через 14–21 день. Также оценивали длительность клинического течения и частоту возникновений осложнений в группах.

Реактогенность и безопасность оценивали на основании: выраженности и связи с вакцинацией наблюдаемых местных и общих реакций в течение 7 дней после вакцинации; выраженности и связи с вакцинацией зафиксированных участниками исследования местных и общих реакций с 7 по 21 день после вакцинации; количества случаев нежелательных явлений в течение исследуемого периода (180 дней), а также по показателям клинического анализа крови, биохимического анализа крови, общего анализа мочи и уровня IgE в сыворотке крови добровольцев.

Исследование проведено в соответствии с нормами качественной клинической практики (GCP), Хельсинской декларацией, принятой XVII сессией Всемирной ассамблеи здравоохранения (1964 г.) и пересмотренной на сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения в 2000 г., «Правилами клинической практики в РФ» (Приказ МЗ РФ № 266 от 19.06.2003 г.).

Статистическая обработка результатов. Демографические данные и первичные параметры профилактической эффективности оценивали с помощью параметрических и непараметрических методик, данные по реактогенности и безопасности по частоте выявляемости нежелательных явлений. Данные по заболеваемости обработаны статистическими методами по критерию Стьюдента-Фишера (с 95% доверительным интервалом).

Результаты исследования и их обсуждение. В исследовании приняли участие 1018 человек, привитых вакциной Грифор® – из них женщин – 350, мужчин – 668. Возраст добровольцев согласно протоколу был в пределах 18–59 лет, средний возраст составил $30,96 \pm 0,12$. Контрольная группа – 1000 человек, средний возраст которых был равен $20,4 \pm 2,38$. Всего под наблюдением находились 2018 человек.

Эпидемиологическая ситуация по гриппу в России и г. Санкт-Петербурге по данным Федерального центра по гриппу ГУ НИИ гриппа в сезон 2007–2008. Рост заболеваемости гриппом и ОРВИ в России был зарегистрирован с начала января 2008 года. Эпидемия 2008 года характеризовалась низкой интенсивностью с поражением преимущественно детей дошкольного возраста и в меньшей степени школьников и взрослого населения. В г. Санкт-Петербурге повышение заболеваемости началось с середины января и продолжалось до конца апреля. В целом по городу зимой 2008 года эпидемия не была объявлена.

Все зарегистрированные местные реакции (1,4%) на вакцинацию Грифор® относились к реакциям слабой степени выраженности, реакций средней и сильной степени выраженности отмечено не было. Местные реакции в основном проявлялись в виде болезненности в месте инъекции продолжительностью не более 2–3 дней и не приводили к потере трудоспособности. Системные реакции слабой степени выраженности в виде жалоб на головную боль, слабую утомляемость и повышение температуры тела до $37,5^\circ\text{C}$, были отмечены у 21 человек, что составило 2,1%. Реакции средней степени выраженности с повышением температуры тела до $38,0^\circ\text{C}$ были отмечены у 3 человек (0,5%), всего было зарегистрировано 24 реакций слабой и средней степени выраженности (2,4%).

Анализ дневников самонаблюдения, заполненных добровольцами с 8 по 21 день после вакцинации, выявил 36 реакций слабой степени, которые выражались в утомляемости, головной боли, повышении температуры до $37,1$ – $37,2^\circ\text{C}$. Только у 2 человек были зарегистрированы температурные реакции средней степени, с повышением температуры тела до $37,6$ – $38,0^\circ\text{C}$. В течение вышеуказанного срока наблюдения все вакцинированные сохраняли свою работоспособность.

Средние показатели общего анализа крови добровольцев в течение динамического наблюдения претерпевали незначительные изменения и оставались в пределах нормальных значений. Показатели общего анализа мочи у добровольцев, получивших вакцину Грифор® с антигенной нагрузкой 45 мкг в процессе динамического наблюдения незначительно колебались и к последнему дню обследования вернулись к исходным величинам.

Определение уровня IgE в сыворотках крови выявило, что при первом обследовании наблюдаемых лиц данный показатель был выше нормы у 15 добровольцев – в 1,5% случаев. У некоторых добровольцев показатели сохранились на таком же уровне на протяжении всего срока наблюдения, а у 3 человек они снизились до нормальных величин. Анализ средних значений IgE в сыворотках крови остальных добровольцев в динамике показал незначительные изменения в сторону повышения или понижения, но при этом показатели оставались в пределах нормы.

Иммуногенную активность вакцин изучали, исследуя парные сыворотки крови добровольцев, взятые до и через 21 день после иммунизации, в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). Анализ результатов исследований показал, что к вирусам А (H1N1), А (H3N2) и В эти показатели у привитых вакциной Грифор® были на уровне стандартных требований СРМР ЕМЕА (2001 г.) и МУ 3.3.2.1758–03. У добровольцев, привитых вакциной Грифор®, четырехкратные нарастания титров антител к вирусу гриппа А (H1N1) выявлены в 77,0%, кратность прироста антител составила 7,0. Уровень серопротекции составил 84,0%. К вирусу А (H3N2) эти показатели составили 61,0%, 4,0 и 77,0%, к вирусу типа В – 71,0%, 4,7 и 61,0% соответственно.

Для изучения длительности сохранения иммунитета исследовали в РТГА парные сыворотки крови, взятые у добровольцев на 90-й и 180-й день после иммунизации. Анализ полученных результатов исследований свидетельствует, что спустя 3 и 6 месяцев после однократной вакцинации препаратом Грифор® показатели иммуногенности сохраняются на достаточно высоком уровне. Число лиц с 4-кратным нарастанием титров антител через 6 месяцев к вирусу А (H1N1) составил 68,1% вместо 77,0, к вирусу А (H3N2) – 51,6 вместо 61,0 и к вирусу В этот показатель был равен 62,6 вместо 71,0%. Кратность прироста титров антител также снизилась незначительно – к вирусу А (H1N1) – с 7,0 до 6,1, к вирусу А (H3N2) – с 4,0 до 3,1 и

к В – с 4,6 до 3,6. Число лиц с защитными титрами антител составило соответственно 81,3, 61,5 и 47,3 вместо 84,0, 77,0 и 61,0 к вирусам А (H1N1), А (H3N2) и В соответственно.

Результаты клинико-эпидемиологического наблюдения добровольцев показали, что за весь период наблюдения, с декабря по май, в группе вакцинированных Грифор® было зарегистрировано 46 случаев ОРВИ, (4,5%) , а среди людей контрольной группы за аналогичный период заболело 73 человека (7,3%). Индекс эффективности (ИЭ) составил 1,6, КЭ был равен 37,5% ($p < 0,05$). Диагноз грипп по клиническим данным был поставлен в 2 случаях среди заболевших из контрольной группы, который в дальнейшем был подтвержден лабораторно. В группе добровольцев, привитых вакциной Грифор®, грипп не был зарегистрирован. Средняя длительность одного случая заболевания ОРВИ в группе привитых составила 6,6 дня, в контрольной группе этот показатель был равен 7,8 – на 1,2 дня больше. Частота возникновений осложненных форм (синуситы, пневмонии, гаймориты) в контрольной группе была в 1,6 раза чаще, что свидетельствует о влиянии вакцинации не только на снижение случаев гриппа и ОРВИ, но и на более легкое течение в случае возникновения заболевания и на более быстрое купирование клинических симптомов и симптомов интоксикации.

В ы в о д ы

1. Вакцина Грифор® в дозе 45 мкг НА ареактогенна, безопасна.

2. Однократная внутримышечная иммунизация добровольцев препаратом Грифор® позволила обеспечить показатели иммуногенности к вирусам гриппа серотипов H1N1, H3N2 и В в соответствии с критериями СРМР ЕМЕА (2001 г.) и МУ 3.3.2.1758–03:

- уровень сероконверсии 77%, 61% и 71%;
- уровень серопротекции 84%, 77% и 61%;
- кратность прироста титров антител 7,0, 4,0, 4,7.

Через 3 и 6 месяцев после вакцинации показатели иммуногенной активности вакцины Грифор® сохранялись на достаточно высоком уровне.

3. Однократная вакцинация Грифор® способствовала снижению частоты возникновения заболеваний в 1,6 раза, по сравнению с лицами контрольной группы, ($p < 0,05$); укорочению средней продолжительности одного случая заболевания на 1,2 дня и уменьшению частоты возникновения осложненных форм в 1,6 раза

© И.Д. Тархан – Моурави, М.М. Ломая, 2008
© I.D. Tarkhan-Mouravi, M.M. Lomaya, 2008

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ АЭРОЗОЛЬТЕРАПИИ ЦИКЛОФЕРОНОМ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ РИНИТАХ

И.Д. Тархан – Моурави, М.М. Ломая

*Тбилисский Научно-практический центр курортологии, физиотерапии,
реабилитации и лечебного туризма Грузии
Тбилисская поликлиника № 1, Грузия*

Тархан – Моурави И.Д., Ломая М.М. Патогенетические механизмы действия аэрозольтерапии циклофероном при хронических ринитах // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 168–170.

Tarkhan-Mouravi I.D., Lomaya M.M. Patogenic mechanisms of cycloferon aerosoltherapy action in chronic rhinites // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 168–170.

Хронический ринит широко распространенная патология. Среди лиц, страдающих хроническим заболеванием уха, горла и носа указанной патологией страдает более 7,4% людей. Отмечается неуклонная тенденция роста заболеваемости хроническими ринитами [3, 5, 7]. В связи с чем, не эффективность применяемых в настоящее время средств лечения хронического ринита.

Ц е л ь ю и с с л е д о в а н и я явилось изыскание новых, более эффективных средств лечения хронического ринита и установление патогенетического механизма для оптимизации лечения указанной патологии.

Обследовано 62 больных, в возрасте 14–53 года, у 34-х из них отмечался хронический катаральный, а у 28 – хронический аллергический ринит. У больных до и после лечения в одинаковых условиях исследовались:

- биохимические показатели – интенсивность реакции преципитации на С-реактивный белок, содержание серогликоидов в сыворотке крови, суточная экскреция общих и свободных 17 оксикортикостероидов с мочой. Интенсивность реакции преципитации на С-реактивный белок изучалась по методу Andersson-McCarty в модификации Пашинина П.М. [4]. Уровень серогликоидов в крови определялся турбидиметрическим методом [2]. Секреция с мочой общих и свободных 17 – оксикортикостероидов устанавливалась методом Porter S., Silber R. в модификации Юдаевой Н.А. и Креховой М.А. [Цит. по 2].

- показатели неспецифической резистентности и иммунологической реактивности организма. Неспецифическая резистентность организма изучалась, исходя из фагоцитарной активности нейтрофилов. Использовался метод Кост и Стенко [6]. Иммунологическую реактивность организма изучали по содержанию в периферической крови Т- и В-лимфоцитов и субпопуляций Т-лимфоцитов – Т-хелперов и Т-супрессоров, а в сыворотке крови – иммуноглобулинов А, G и М и общего неспецифического иммуноглобулина Е. Т- лимфоциты определялись в реакции спонтан-

ного, а В-лимфоциты – в реакции комплементарного розеткообразования [9]. Субпопуляции Т-лимфоцитов определялись в реакции Shore A., Dosh H.M. [Цит. по 1]. Иммуноглобулины классов А, G и М определялись методом радиальной иммунодиффузии [12]. Содержание общего неспецифического иммуноглобулина Е изучалось радиоиммунным методом с использованием китнабора «Phadedas IgE Prist» шведской фирмы «Pharmacia Diagnostics».

За нормы изучаемых показателей принимали величины аналогичных показателей, установленные в НИИ курортологии, физиотерапии и реабилитации Грузии у 25 практически здоровых людей.

Лечение больных хроническими ринитами заключалось в проведении им 15 сеансов аэрозольтерапии. С этой целью применялся 1% водный раствор циклоферона, на ингаляцию 2 мл препарата. Процедуры проводились ежедневно, кроме воскресных дней. Длительность отдельной процедуры составляла 15 минут.

В результате проведенного исследования установлено, что аэрозольтерапия циклофероном вызывает усиление секреции глюкокортикостероидов, вырабатываемых пучковой зоной коры надпочечников. Этот процесс, который более выражен при хроническом катаральном рините, проявлялся в усилении экскреции общих и свободных 17-оксикортикостероидов с мочой. В частности, до проведения аэрозольтерапии, при хроническом катаральном рините экскреция общих 17-оксикортикостероидов с мочой, в среднем, составила $7,332 \pm 0,129$ мкмоль/сутки ($N=13,300 \pm 0,630$ мкмоль/сутки), а экскреция свободных 17-оксикортикостероидов с мочой – $0,266 \pm 0,007$ мкмоль/сутки ($N=0,610 \pm 0,030$ мкмоль/сутки). При хроническом аллергическом рините до лечения величины указанных показателей, в среднем были равны – $5,715 \pm 0,040$ мкмоль/сутки и $0,125 \pm 0,003$ мкмоль/сутки.

После аэрозольтерапии циклофероном, при хроническом катаральном рините, экскреция общих 17-оксикортикостероидов с мочой уже составляла $13,110 \pm 0,145$ мкмоль/сутки ($p < 0,001$), а экскреция

Таблица 4

Показатели влияния аэрозольтерапии циклофероном на неспецифическую резистентность организма и гуморальный иммунитет у больных хроническими ринитами

Показатели			Формы хронического ринита	
			катаральный	аллергический
Фагоцитарное число, % (N-69,640 ± 1,270)	n 34			28
	M ± m	До лечения После лечения	44,65 ± 1,444 64,91 ± 1,219	29,96 ± 0,605 41,14 ± 0,608
	t 10,724			13,030
	P		< 0,001	< 0,001
Фагоцитарный индекс (N-7,940 ± 0,110)	M ± m	До лечения После лечения	5,2 ± 0,264 6,691 ± 0,201	3,543 ± 0,144 4,457 ± 0,137
	T 4,5-1			4,611
	P		< 0,001	< 0,001
Количество В-лимфоцитов в периферической крови, ·10 ⁹ кл/л (N – 0,330·109 ± 0,007·109кл/л)	M ± m	До лечения После лечения	0,57 ·109 ± 0,005·109 0,32·109 ± 0,03·109	0,798·109 ± 0,006·109 0,611·109 ± 0,014·109
	T 43,808			12,281
	P		< 0,001	< 0,001
Процентное содержание В-лимфоцитов в периферической крови (N – 15,720 ± 0,610%)	M ± m	До лечения После лечения	30,14 ± 0,411 14,37 ± 0,219	45,07 ± 0,570 36,41 ± 0,702
	P		< 0,001	< 0,001
	t 33,806			9,577
Содержание иммуноглобулинов класса А в сыворотке крови, мкмоль/л (N – 16,400 ± 0,770 мкмоль/л)	M ± m	До лечения После лечения	30,72 ± 0,151 17,20 ± 0,143	41,54 ± 0,159 32,79 ± 0,537
	P		< 0,001	< 0,001
	t 65,034			15,004
Содержание иммуноглобулинов класса G в сыворотке крови, мкмоль/л (N – 100,660 ± 2,980 мкмоль/л)	M ± m	До лечения После лечения	131,8 ± 0,241 93,78 ± 0,514	141,8 ± 0,2144 114,1 ± 1,273
	P		< 0,001	< 0,001
	T 66,960			21,410
Содержание иммуноглобулинов класса М в сыворотке крови мкмоль/л (N – 2,170 ± 0,060 мкмоль/л)	M ± m	До лечения После лечения	2,256 ± 0,048 2,271 ± 0,014	2,368 ± 0,039 2,325 ± 0,022
	P		> 0,5	> 0,2
	T0,293			0,958

свободных 17-оксикортикостероидов с мочой-0,596 ± 0,002 мкмоль/сутки (p < 0,001). При хроническом аллергическом рините, после лечения, величины указанных показателей, в среднем, соответственно были равны 9,490 ± 0,062 мкмоль/сутки (p < 0,001) и 0,358 ± 0,004 мкмоль/сутки (p < 0,001).

Рост экскреции с мочой свободных 17-оксикортикостероидов указывает на увеличение выброса в кровь биологически активного кортизола [8,13], оказывающего противовоспалительное действие [10, 11]. Увеличение выброса кортизола в кровь вызывает ослабление, вплоть до полного исчезновения воспалительного процесса в слизистой носа. Этот процесс более выражен при хроническом катаральном рините и проявлялся в ослаблении, вплоть до полного исчезновения реакции преципитации на С-реактивный белок и снижении количества серогликоидов в сыворотке крови.

В частности, до проведения аэрозольтерапии циклофероном, при хроническом катаральном рините интенсивность реакции преципитации на С-реактив-

ный белок, в среднем, составляла 2,628 ± 0,094 условных единиц (у. е.) (N – 1,00 у. е.), а содержание серогликоидов в сыворотке крови – 0,224 ± 0,001 у. е. (N-0,170 ± 0,002 у. е.). При хроническом аллергическом рините величины указанных показателей, до лечения, в среднем, соответственно были равны – 3,393 ± 0,107 у. е. и 0,250 ± 0,001 у. е. После проведения аэрозольтерапии циклофероном, при хроническом катаральном рините интенсивность реакции преципитации на С-реактивный белок, в среднем, составила 1,265 ± 0,076 у. е. (p < 0,001), а содержание серогликоидов в сыворотке крови – 0,163 ± 0,001 у. е. (p < 0,001). При хроническом аллергическом рините, после лечения величины указанных показателей в среднем соответственно составили 2,464 ± 0,108 у. е. и 0,213 ± 0,001 у. е. Уменьшение, вплоть до исчезновения, воспалительного процесса в слизистой носа вызывало усиление клеточного звена иммунитета и оказывало десенсибилизирующее действие. Этот процесс, который был более выражен при хроническом катаральном рините, проявлялся в увеличении абсо-

лютного и процентного содержания Т- лимфоцитов и Т- хелперов в периферической крови на фоне снижения Т- супрессоров и уменьшении общего неспецифического иммуноглобулина Е в сыворотке крови. В частности, до проведения аэрозольтерапии, при хроническом катаральном рините, количество Т-лимфоцитов в периферической крови, в среднем, составило $0,559 \cdot 10^9 \pm 0,011 \cdot 10^9$; 90 кл/л ($N = 1,320 \cdot 10^9 \pm 0,029 \cdot 10^9 \text{ кл/л}$), процентное содержание Т-лимфоцитов в периферической крови – $34,440 \pm 0,308\%$ ($N = 63,200 \pm 1,450\%$), количество Т-хелперов в периферической крови – $30,570 \pm 0,237\%$ ($N = 48,156 \pm 0,986\%$), содержание Т- супрессоров в периферической крови – $35,220 \pm 0,153\%$ ($N = 29,100 \pm 0,974\%$), количество общего неспецифического иммуноглобулина Е в сыворотке крови – $302,600 \pm 1,026 \text{ МЕ/мл}$ ($N = 142,280 \pm 11,640 \text{ МЕ/мл}$). При хроническом аллергическом рините величины указанных показателей, до лечения, были равны – $0,396 \cdot 10^9 \pm 0,007 \cdot 10^9 \text{ кл/л}$, $25,030 \pm 0,315\%$, $20,460 \pm 0,195\%$, $41,410 \pm 0,153\%$ и $364,100 \pm 0,701 \text{ МЕ/мл}$.

После проведения аэрозольтерапии, при хроническом катаральном рините, количество Т-лимфоцитов в периферической крови, в среднем, составило $1,307 \cdot 10^9 \pm 0,012 \cdot 10^9 \text{ кл/л}$ ($p < 0,001$), процентное содержание Т-лимфоцитов в периферической крови – $54,640 \pm 0,356\%$ ($p < 0,001$), количество Т-хелперов в периферической крови – $44,960 \pm 0,237\%$ ($p < 0,001$), содержание Т-супрессоров в периферической крови – $24,730 \pm 0,190\%$ ($p < 0,001$), количество общего неспецифического иммуноглобулина Е в сыворотке крови – $166,000 \pm 1,831 \text{ МЕ/мл}$. При хроническом аллергическом рините, после лечения, величины указанных показателей, в среднем, соответственно были равны $0,769 \cdot 10^9 \pm 0,017 \cdot 10^9 \text{ кл/л}$ ($p < 0,001$), $38,760 \pm 0,798\%$ ($p < 0,001$), $29,990 \pm 0,620\%$ ($p < 0,001$), $34,780 \pm 0,369\%$ ($p < 0,001$) и $286,600 \pm 3,866 \text{ МЕ/мл}$ ($p < 0,001$).

Ослабление воспалительного процесса и сенсibilизации в слизистой носа и, усиление клеточного звена иммунитета вызывало усиление неспецифической резистентности организма, нормализуя показатели гуморального иммунитета. Этот процесс, был более выражен при хроническом катаральном рините, проявлялся в уменьшении повышенного содержания В-

лимфоцитов и иммуноглобулинов классов А и G в сыворотке крови, увеличении фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса. Аэрозольтерапия циклофероном вызывает повышение выброса в кровь кортизола, вызывающего ослабление воспалительного процесса в слизистой носа, усиление клеточного звена иммунитета, оказывает десенсибилизирующее действие, повышает неспецифическую резистентность организма, нормализуя показатели иммунитета.

Список литературы

1. Дранин Г.И. Руководство по лабораторной иммунологии. – Одесса: Астро-Принт. – 1998. – 426 с.
2. Камышиников В.С. Справочник по клинико-биохимической лаборатории. – Вып 2. – Т. 2. – Минск: Беларусь, 2000. – 463 с.
3. Лучихин Л.А., Григорьев С.Б., Степаненко Г.И. Комбинированный препарат полидекса с фенилэфрином в лечении больных с воспалительными заболеваниями носа и околоносовых пазух // Вестник оториноларингологии. – 1999. – № 3. – С. 48–49.
4. Пашинин П.М. К методике определения С-реактивного белка // Лаб. дело. – 1961. – № 5. – С. 3–8.
5. Пискунов Г.З., Пискунов С.З. Клиническая ринология. – М.: Миклом. – 2002. – 364 с.
6. Стенко С.И. Исследование фагоцитоза: Справочник по клиническим лабораторным методом исследования. – М.: Медицина, 1968. – С. 78–80.
7. Тарасов Д.И., Морозов А.Б. Частота и структура хронических заболеваний уха, горла и носа среди населения и их динамика // Вестник оториноларингологии. – 1991. – N2. – С. 12–14.
8. Шрейбер В. Патофизиология желез внутренней секреции. – Прага: Авиценум. – 1987. – 493 с.
9. Jondal M., Holm J., Wigrell H. Surface markers of human T-B-lymphocytes. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red blood cells // J. Exper. Med. – 1972. – vol. 136. – P. 207–226.
10. Korig P. Inhaled corticosteroid. – Their present and future in management of asthma // Heilbar Kurort. – 1995. – Bd. 47. – N4. – P. 122–123.
11. Laitinen L.A., Laitinen A., Haahtela T. Treatment of eosinophilic airway inflammation with inhaled corticosteroid, budesonide, in newly diagnosed asthmatic patients (abstract) // Env. Respir. J. – 1991. – N4. – Suppl. 14. – P. 342.
12. Manchini G., Carbonare A.O., Hermans J.F. Immunological quantitation of antigens by single radial immunodiffusion // Immunochemistry. – 1965. – vol. 2. – N3. – P. 235–254.
13. Williams A.N. Textbook of Endocrinology. – Philadelphia: Saunders Company, 1992. – 332 p.

© А.Г. Афиногенова, Г.Е. Афиногенов, А.Н. Пострелов, М.В. Краснова, 2008
© A.G. Afinogenova, G.E. Afinogenov, A.N. Postrellov, M.V. Krasnova, 2008

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНК НА ИЗДЕЛИЯХ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ НАНОКЛАСТЕРОВ СЕРЕБРА

А.Г. Афиногенова¹, Г.Е. Афиногенов¹, А.Н. Пострелов², М.В. Краснова¹

¹Российский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Афиногенова А.Г., Афиногенов Г.Е., Пострелов А.Н., Краснова М.В. Формирование микробных биопленок на изделиях медицинского назначения под влиянием нанокластеров серебра // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 171–174.

¹Федеральное государственное учреждение «Российский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи», ФГУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологий». Россия, 195427, Санкт-Петербург, ул. Академика Байкова, 8. Тел. 812–5560828, факс 812–5507901. E-mail: info@rniito.org

²Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Министерства здравоохранения Российской Федерации» (ГОУВПО СПбГМА им. И.И. Мечникова Росздрава). Россия, 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47. Тел. 812–5439609, факс 812–7401524. E-mail: vladlif@mechnik.spb.ru

Резюме. Авторами разработан и зарегистрирован в Росздраве протез сетчатый для герниопластики с антимикробными свойствами (ПСГА), включающий в свой состав антисептик повияргол (нанокластеры серебра, стабилизированные поливинилпирролидоном /ПВП/) и синтетические полимеры. ПСГА предназначен для пластики без натяжения апоневротическо-мышечных дефектов тканей. Опыты *in vitro* проводили в планшетах для клеточных культур, в опытах *in vivo* сетчатый протез вводили подкожно морским свинкам в условиях микробной контаминации. Изучали бактерицидную активность сеток и скорость формирования микробных биопленок на них. Пролонгированный антимикробный эффект сеток сохраняется до 5-го дня и более с учетом эффекта последствия суббактерицидных концентраций антисептика, что необходимо для оптимизации репаративного процесса в ране. В присутствии нанокластеров серебра предупреждается формирование микробной биопленки и развитие инфекционного осложнения вокруг протеза.

Ключевые слова: герниопластика, повияргол, ПВП, биопленки.

The prevention of microbial biofilm formation on medical devices under the silver nanoclusters influence

Afinogenova A.G., Afinogenov G.E., Postrellov A.N., Krasnova M.V. The prevention of microbic biofilms formation on the products of medical appointment under the influence of silver nanoclusters // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 171–174.

Russian Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after R.R. Vreden. 195427, St. Petersburg, Academic Baykov str., 8. Tel. 812-5560828, fax 812-5507901. E-mail: info@rniito.org

Saint-Petersburg State Medical Academy named after I.I. Mechnikov. 195067, St. Petersburg, Piskarevskiy prosp., 47. Tel. 812-5439609, fax 812-7401524. E-mail: vladlif@mechnik.spb.ru

Summary Net prosthetic appliance is made of lavsan polyfilaments. Antimicrobial effect was attained *in vitro* when the composition of mixed high dispersed silver with high-molecular weight polyvinylpyrrolidone (PVP) was placed on polymeric net. The piece of net was placed on the plate bottom with nutrient medium, then infect with *S. aureus* 209 P «Oxford» was added. The CFU/ml as a testing parameter was evaluated during the experiment. *In vivo* the net prosthetic appliances were placed subcutaneous on guinea-pigs in conditions of microbial contamination; after what the CFU/cm² of each example were evaluated. Silver-net prolonged antimicrobial effect was obtained after more than 5 days as well, this is necessary for optimization of wound reparative processing. Silver-PVP composition prevents biofilm formation and infectious complications around net prosthetic appliance.

Key words: hernioplasty, poviargol, high-molecular weight polyvinylpyrrolidone, biofilms.

Бактериальная инфекция на клеточном уровне представляет собой результат взаимодействия бактериальной клетки с клеткой организма хозяина. При этом, после необратимой адгезии бактерий к клеткам ткани хозяина и последующей ее колонизации, формируется первичный микробный очаг, образование которого можно предупредить, приняв во внимание следующие принципы: микробная деконтаминация раны; профилактика адгезии за счет блокирования адгезинов микробной клетки, изменения структуры и функции рецепторов клеток-мишеней человека; предупреждение микробной колонизации и последующей генерализации инфекции путем локализации инфекта в ране [1, 2].

Нуль-валентное металлическое серебро в антисептике Повияргол существует в виде нанокластеров сферической формы с узким распределением частиц по размерам в диапазоне 1–4 нм, причем основную долю (более 80%) составляют частицы серебра размером 1–2 нм. Пролонгированное действие повияргола в организме является результатом того, что нанокластеры серебра являются своеобразной депонированной формой ионного серебра, которое постоянно генерируется по мере его связывания с биологическими субстратами [3].

Нами разработан и зарегистрирован в Росздраве протез сетчатый для герниопластики с антимикроб-

ными свойствами /ПСА/, включающий в свой состав антисептик повидаргол и синтетические полимеры. Протез представляет собой сетку из лавсана, покрытую антимикробной композицией из повидаргола с ПВП высокомолекулярным. ПСА предназначен для пластики без натяжения апоневротическо-мышечных дефектов тканей. Наличие антимикробных свойств у сетчатых протезов обеспечивает профилактику инфекционных осложнений [4].

Цели и задачи исследования. Задачей данного исследования являлась оценка скорости формирования микробной биопленки на изделии медицинского назначения с целью изучения влияния применяемой антимикробной композиции на поведение инфекта в ране. Предварительно была проведена работа по оценке эффекта последствия суббактерицидных концентраций полимерных и неполимерных химических агентов.

Материалы и методы исследования. Для изучения *in vitro* возможности предотвращать формирование микробной биопленки использовали сетчатые протезы ПСА. В качестве тест-культуры служил штамм *S. aureus* 209 Р «Оксфорд» при микробной нагрузке $1 \cdot 10^7$ КОЕ/мл. Опыты *in vitro* проводили в планшетах для клеточных культур. Фрагменты сетки помещали в лунки с инокулированным питательным бульоном (МПБ). В течение 3-х недель еженедельно оценивали скорость формирования микробной биопленки в контроле (сетка без серебра) и в опыте (сетка с серебром) по количеству КОЕ/см² и белка (метод Лоури по величине оптической плотности) в питательной среде и на поверхности сетки. Оценивали также формирование биопленки на поверхности сетки при просмотре в сканирующем микроскопе и микробного матрикса, тестируемого при помощи видеотест-системы («ВидеоТест Мастер Морфология»).

Оценку бактерицидной активности повидаргола проводили по методическим рекомендациям [5] чашечным суспензионным методом. Эффект последствия суббактерицидных концентраций повидаргола и диоксида оценивали на приборе iEMS-фотометр

(фирмы «Лабсистемс», Финляндия) [6]. Оценку антимикробной активности сеток проводили диско-диффузионным методом [6].

В опытах *in vivo* сетчатый протез вводили подкожно морским свинкам в условиях контаминации штаммом *S. aureus* 209 Р «Оксфорд» при микробной нагрузке $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. Для изучения бактерицидной активности сеток и скорости формирования микробных биопленок на них животных выводили из эксперимента на 1-, 3-, 5-ый день. Для изучения морфологии тканей в зоне хирургического вмешательства животных выводили из эксперимента на 10-й и 15-й день. В качестве контроля использовали сетку без пропитки антимикробным составом.

Результаты исследования. В предварительных опытах выявлена бактерицидная активность 1% водного раствора повидаргола в отношении *S. aureus* 3lg при экспозиции 1 час. При оценке эффекта последствия суббактерицидных концентраций повидаргола и диоксида (рис. 1) в отношении штамма *S. aureus* 209 Р «Оксфорд» выявлено следующее. Суббактерицидные концентрации тестируемых антисептиков были в 10 раз меньше их минимальных ингибирующих концентраций. Скорость появления логарифмической фазы роста у стафилококка под влиянием неполимерного антисептика диоксида аналогична таковой в контроле (без антисептика). При этом под действием полимерного антисептика повидаргола – на 4–5 часов позже, чем в контроле.

Контрольные планшеты (*in vitro*) показали значительный рост инфекта в питательной среде после инкубации сетки без антимикробного состава: к концу 1 недели – до 10^9 КОЕ/мл; к концу 2 недели – до 10^{10} КОЕ/мл; к концу 3 недели – до 10^{11} КОЕ/мл. В биопленке на поверхности сетки наблюдали увеличение КОЕ/см² (до 10^{11}) к концу 3-ей недели.

В отличие от этого, в опытных планшетах с сеткой, пропитанной антимикробным составом, не наблюдался рост тест-штамма в питательной среде в течение 3-х недель. При этом на поверхности протеза наблюдали отсутствие биопленки (табл. 1, рис. 2).

Таблица 1

Влияние серебра на скорость формирования биопленки на поверхности сетки для герниопластики (*in vitro*)

Объект исследования	1-я неделя (гомогенизат микробной биопленки), КОЕ/см ²	2-я неделя (гомогенизат микробной биопленки), КОЕ/см ²	3-я неделя (гомогенизат микробной биопленки), КОЕ/см ²
Сетка без серебра (контроль)	$5,6 \pm 1,1 \cdot 10^8$	$1,2 \pm 0,3 \cdot 10^{10}$	$2,3 \pm 0,4 \cdot 10^{11}$
Сетка с серебром (опыт)	0	0	0

В контроле оценка количества белка (по Лоури) на поверхности сетки (*in vitro*) показала его увеличение по мере нарастания матрикса микробной биопленки в отличие от опытной сетки (табл. 2).

В опытах *in vivo* на контрольной сетке формировалась микробная биопленка: на 1-й день 10^3 КОЕ/см², на 3-й 10^6 КОЕ/см², на 5-й 10^9 КОЕ/см², что было под-

тверждено методом сканирующей микроскопии. Образцы сетки с повидарголом на 1-, 3-, 5-й дни были стерильны и, при исследовании методом диффузии в агар, обладали антимикробным эффектом в отношении тест-культуры *S. aureus* (табл. 3). Видеотест-системой подтверждено отсутствие формирования матрикса микробной биопленки на поверхности сетки с

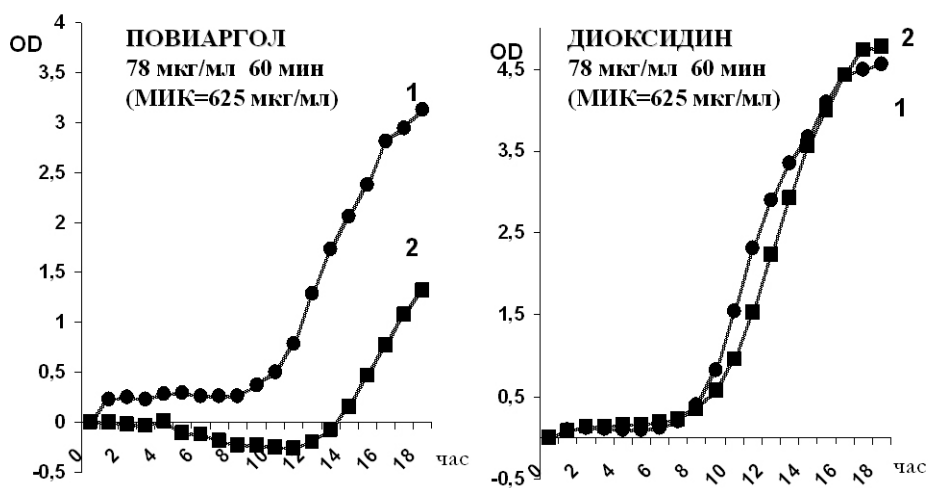
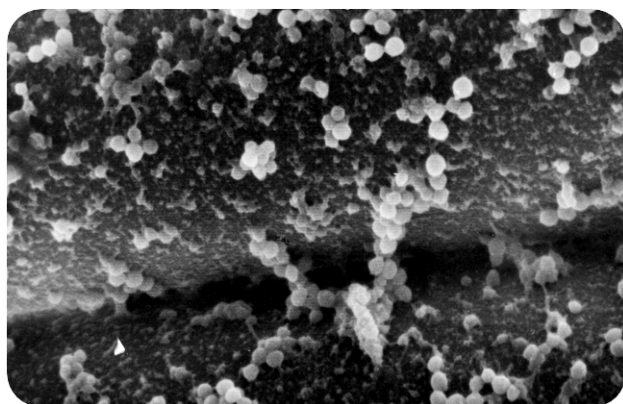
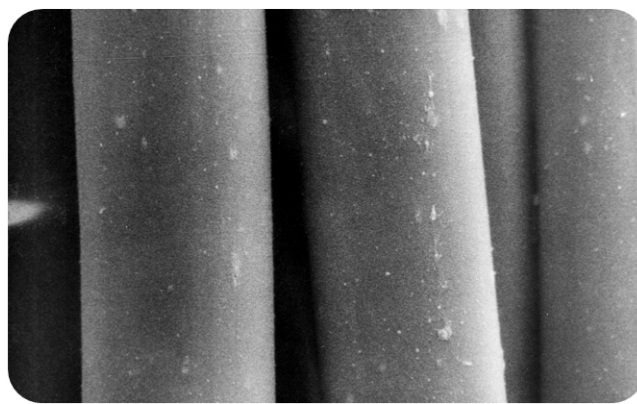


Рис. 1. Сравнительная эффективность воздействия антисептиков: полимерного (повиаргол) и неполимерного (диоксидин) на культуру *S. aureus* ATCC 6538

1 - контроль (культура без обработки антисептиком); 2 - опыт (культура, обработанная антисептиком)



× 4000. Контроль: сетка без серебра



× 2000. Опыт: сетка с серебром

Рис. 2. Формирование микробной биопленки на поверхности сетки *in vitro* (через 3 недели)

Таблица 2

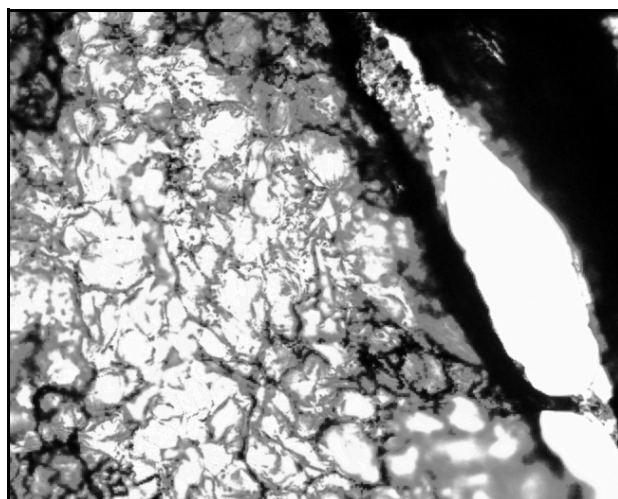
Оценка количества белка (по Лоури) в матриксе микробной биопленки с поверхности сетки (*in vitro*)

Объект исследования	Оптическая плотность (OD): измерение при $\lambda = 750$ нм		
	1-я неделя	2-я неделя	3-я неделя
Контроль – сетка без антисептика	$0,42 \pm 0,09$	$0,65 \pm 0,04$	$2,61 \pm 0,11$
Опыт – сетка с антисептиком	$0,001 \pm 0,0002$	$0,16 \pm 0,03$	$0,13 \pm 0,01$

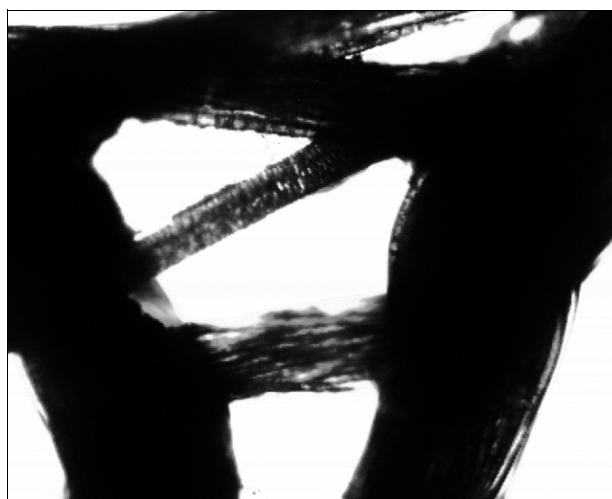
Таблица 3

Эффект «истощения» антисептической активности сетки и скорость формирования биопленки в эксперименте на животных

День	Бактерицидная активность в отношении <i>S. aureus</i> 209, зона задержки роста (мм)	Гомогенизат биопленки с поверхности сетки (КОЕ/см ²)	
		Контроль (без серебра)	Опыт (с серебром)
1-й	В зоне аппликации образца + 5 мм	$1,2 \pm 0,1 \cdot 10^3$	0
3-й	В зоне аппликации образца	$2,4 \pm 0,4 \cdot 10^6$	0
5-й	В зоне аппликации образца	$1,3 \pm 0,3 \cdot 10^9$	0



Формирование микробной биопленки через 5 суток на сетке без серебра



Отсутствие формирования микробной биопленки на сетке с серебром

Рис. 3. Полимерная сетка для герниопластики (в опытах на морских свинках при подкожном введении в нестерильных условиях)

серебром, в отличие от контрольной сетки (рис. 3). В опыте с серебросодержащими сетками к 10-му – 15-му дню не наблюдали нагноения у животных, в отличие от животных, у которых использовали сетку без полиаргола.

При гистологическом исследовании на 7 сутки в контроле наблюдали в толще мышечной ткани вокруг протеза очаговое экссудативное воспаление с преобладанием в экссудате полиморфно-ядерных лейкоцитов. В опыте в толще мышцы наблюдали очаговое разрастание грануляционной ткани, представленной макрофагами, сосудами, фибробластами вокруг кровоизлияния.

В ы в о д ы

1. Пролонгированный антимикробный эффект сеток сохраняется до 5-го дня и более с учетом последующего действия суббактерицидных концентраций антисептика, что необходимо для оптимизации репаративного процесса в ране.

2. В присутствии нанокластеров серебра предупреждается формирование микробной биопленки и развитие инфекционного осложнения вокруг протеза.

Список литературы

1. Афиногенов Г.Е., Елинов Н.П. Антисептики в хирургии. – М., Медицина, 1987. – 143 с.
2. Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф. Антимикробные полимеры. – С-Пб.: Изд-во «Гиппократ», 1993–260 с.
3. Афиногенова А.Г. Разработка технологии и исследование глазных лекарственных препаратов на основе природных и синтетических полимеров, обладающих антимикробным и защищающим эндотелий роговицы действием: Автореферат кандидатской диссертации. – СПб. – 22 с.
4. Басин Б.Я., Афиногенов Г.Е., Пострелов Н.А., Афиногенова А.Г., Кольцов А.И. Способ изготовления сетчатого протеза с антимикробными свойствами для герниопластики. Патент на изобретение № 2292224 от 27.01.2007.
5. Афиногенов Г.Е., Краснова М.В. Чашечный метод оценки эффективности дезинфектантов и антисептиков. Методические рекомендации № 2003/17. – Утв. Первым зам. министра МЗ РФ А.И. Вятковым. – 19.03.2004 г. – 13 с.
6. Скала Л.З. и соавт. Практические аспекты современной микробиологии. – М.: ТОО «ЛАБИНФОРМ», 1997. – 184 с.

© В.В. Тец, А.П. Бобров, Л.Ю. Орехова, Д.В. Левкович, Д.С. Щербакова, Г.В. Тец, А.М. Доморада, О.М. Яковлева, 2008

© V.V. Tets, A.P. Bobrov, L. Yu. Orekhova, D.V. Levkovich, D.S. Shcherbakova, G.V. Tets, A.M. Domorad, O.M. Yakovleva, 2008

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ АНТИСЕПТИКОВ И ДНКАЗЫ НА БИОПЛЕНКИ БАКТЕРИЙ НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ, ОБРАЗУЮЩИЕСЯ ПРИ ОРТОДОНТИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ НЕСЪЕМНОЙ АППАРАТУРОЙ

В.В. Тец, А.П. Бобров, Л.Ю. Орехова, Д.В. Левкович, Д.С. Щербакова, Г.В. Тец, А.М. Доморада, О.М. Яковлева

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Тец В.В., Бобров А.П., Орехова Л.Ю., Левкович Д.В., Щербакова Д.С., Тец Г.В., Доморада А.М., Яковлева О.М. Эффективность действия антисептиков и ДНКаза на биопленки бактерий нормальной микрофлоры, образующиеся при ортодонтическом лечении несъемной аппаратурой // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 175–179.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Росздрав), Россия, 197022, ул. Льва Толстого, д. 6–8, тел.: 234-08-21, факс: 234-01-25, Эл. почта: Rector@spmu.rssi.ru

Резюме: В работе представлены результаты изучения действия антисептиков и ДНКаза на бактериальные биопленки. Установлено, что представители нормальной микрофлоры ротовой полости при ортодонтическом лечении образуют моно и смешанные биопленки на поверхности зуба и несъемной конструкции. В матриксе биопленок выявлена внеклеточная ДНК, содержащая около 30 кб. Показано, что использованные антисептики и нуклеаза вызывают уменьшение биомассы биопленок и числа КОЕ, образующих их бактерий. Выявлен эффект усиления действия антисептиков на бактерии биопленок в присутствии ДНКаза. Показанный феномен усиления действия антисептиков ДНКазой был идентичен у разных антисептиков и биопленок, образованных моно и смешанной культурой.

Ключевые слова: Нормальная микрофлора, биопленки, антисептики, ДНКаза, ортодонтическое лечение.

Tets V.V., Bobrov A.P., Orekhova L. Yu., Levkovich D.V., Shcherbakova D.S., Tets G. V., Domorad A.M., Yakovleva O.M. Antiseptics and DNA-ase effects on normal microflora bacteria biofilms, formed at orthodontic treatment by fixed equipment // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 175–179.

State Educational Establishment of Higher Professional Training «Pavlov St.-Petersburg State Medical University of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 197022, Lva Tolstogo str., 6–8, tel.: 234-08-21, fax: 234-01-25, e-mail: Rector@spmu.rssi.ru

S u m m a r y : The study of antiseptics and DNase I effect on the formation and viability of bacterial biofilms is a subject of these investigations. Bacteria belonging to the resident flora that form biofilms on the tooth and brackets surface during orthodontic treatment were the object of this investigation. This study evaluated the presence of extracellular DNA with an average size of 30 kb in the matrix of all the bacterial strains.

It was shown, that usage of antiseptics and DNase I inhibited biofilm formation with the reduction of biomass and colony forming units number. We revealed enhancement of antiseptic activity in the presence of DNase I. This effect seems to be universal for various antibacterial agents and mono- or mixed-population biofilms.

K e y w o r d s : biofilm, resident microbiota, antiseptic, DNase I, orthodontic treatment, extracellular DNA.

Современные представления о существовании бактерий в составе биопленок определяют актуальность изучения действия антисептиков и антибиотиков на микробные сообщества [2, 3, 10–12]. Все известные типы биопленок имеют сложное строение и включают в себя бактерии, внеклеточный матрикс и поверхностную оболочку, богатую липидами [2, 3, 17, 21, 22]. Недавно установлено, что компоненты матрикса играют важную роль в процессе проникновения в биопленки антибиотиков и антисептиков [13, 15, 16, 22]. Среди различных молекул, обнаруженных в составе матрикса, особое внимание привлекают липиды и внеклеточная ДНК. Липиды входят в состав поверхностной оболочки, отграничивающей сообщество от внешней среды, формируя мембраноподобную структуру [23]. Такая оболочка, предположительно, может служить преградой на пути антимикробных

веществ [5, 23]. Большой интерес также вызывают свободные молекулы ДНК, которые можно обнаружить за пределами клеток эукариот и прокариот [6, 9, 19]. Показано, что внеклеточная ДНК бактерий, поступающая в межклеточный матрикс биопленок, может служить новой мишенью для изменения свойств микробного сообщества [1, 4, 7]. Установлено, что разрушение внеклеточной ДНК матрикса биопленок повышает эффективность действия антибиотиков [1, 7, 20]. Вместе с тем, проникновение в биопленку антибиотиков и ДНКаза зависит от её свойств, которые могут различаться в зависимости от условий экологической ниши, где обитают бактерии. Таким образом, при оценке действия антимикробных препаратов на бактерии биопленок, необходимо использовать штаммы, полученные от пациентов именно с изучаемой патологией.

Эффективность действия антисептиков на бактерии, находящиеся в составе биопленок, остается мало изученной. Практически отсутствуют данные о действии антисептиков на биопленки бактерий, относящихся к представителям нормальной микрофлоры и выделенных из разных экологических ниш. Известно, что ортодонтическое лечение несъемной аппаратурой может приводить к различным воспалительным заболеваниям в ротовой полости [8, 18]. Показано также, что даже при отсутствии воспалительных процессов в ходе ортодонтического лечения за счет представителей нормальной микрофлоры ротовой полости на поверхности несъемной аппаратуры и эмали зубов формируются устойчивые биопленки, включающие различные, в том числе патогенные и условнопатогенные микроорганизмы [18]. Вместе с тем, особенности воздействия антисептиков на бактерии в биопленках, формирующихся при ортодонтическом лечении, остаются практически неизученными.

Ц е л ь ю р а б о т ы было изучение действия некоторых антисептиков и фермента, разрушающего внеклеточную ДНК, на биопленки, сформированные из микробов, выделенных с поверхности зуба и несъемной аппаратуры.

М а т е р и а л ы и **м е т о д ы** **и с с л е д о в а н и я**. Объектом исследования служили штаммы грамположительных и грамотрицательных бактерий, полученные от больных в ходе ортодонтического лечения с помощью несъемной аппаратуры: *Streptococcus mitis* VT1007 и *Neisseria subflava* VT4007. Питательные среды. Мясопептонный бульон и кровяной мясопептонный агар.

Антисептики и ферменты. В работе использованы антисептики – хлорексидин и мультицид (Россия) и фермент дезоксирибонуклеаза I – ДНКазы I (ООО «Самсон», Россия).

Жизнеспособность бактерий оценивали, определяя число колониеобразующих единиц (КОЕ) методом серийных разведений. Для этого готовили последовательные десятикратные разведения в физиологическом растворе и по 0,1 мл высевали на агаризованную среду, после чего инкубировали 24 часа при $T = 37^{\circ}\text{C}$ и подсчитывали количество выросших колоний.

Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) антисептиков определяли на жидкой и плотной питательной средах, используя метод серийных разведений. Метод основан на последовательных двукратных разведениях антибиотика. Бактериальную суспензию вносили в количестве, соответствующем стандарту мутности 0,5 по McFarland, и инкубировали при $T = 37^{\circ}\text{C}$. Первую наименьшую концентрацию антибиотика (из серии последовательных разведений), при которой бактериальный рост визуально не определялся, принимали за МПК.

Получение биопленок. Биопленки выращивали в пластиковых планшетах (96-ти луночные планшеты Sarstedt, Германия), для чего в лунки вносили по 0,1 мл бульонной культуры бактерий ($5,0 \times 10^7$ КОЕ),

выращивали в течение 24-х часов при $T = 37^{\circ}\text{C}$. Для оценки состояния биопленок из лунок удаляли среду с бактериями, находящимися в планктонном росте, промывали трехкратно фосфатным буфером, высушивали, окрашивали раствором генцианвиолета (50 мкл/лунку) в течении 10 минут, промывали фосфатным буфером, затем добавляли 96° этиловый спирт (200 мкл/лунку) и учитывали результаты на ридере (Stat-Fax-2100) при длине волны 560 нм.

Получения внеклеточного матрикса. После удаления среды с бактериями растущими планктонно, биопленки промывали фосфатным буфером, смывали или соскабливали с поверхности в минимальном объеме дистиллированной воды или изотонического раствора хлорида натрия. Полученную суспензию центрифугировали для разделения на фракции клеток и внеклеточного матрикса.

Выявление генов 16S рибосомальной ДНК в межклеточном матриксе. Внеклеточную ДНК из матрикса биопленок выделяли при помощи фенол-хлороформного метода. Для поиска 16S рибосомальной ДНК нами была выбрана следующая пара олигонуклеотидных праймеров: 5'-TCCTACGGGAGGCAGCAGT-3' и 5'-GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT-3' с длиной ампликона равной 466 нуклеотидов (Бласт). Праймеры были синтезированы в ООО «Синтол». Исследование проводили в присутствии 0,2 mM каждого из дезоксирибонуклеотидтрифосфатов 2,5 mM MgCl_2 , 30 mM Трис-HCl (pH 8,5 при $+25^{\circ}\text{C}$), 16 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1% Nonidet P40 («Sigma»), по 0,5 мкл олигонуклеотидных праймеров и 2,5 Ед Dia Taq ДНК полимеразы (Россия) на амплификаторе «Teche» (Англия). Условия проведения ПЦР: 95°C 3 мин 30 сек; затем 94°C 15 сек, 58°C 30 сек; 72°C 45 сек – 37 циклов; затем 72°C 7 минут 35 секунд. ПЦР фрагменты анализировали электрофорезом в 2% агарозном геле окрашиванием бромистым этидием. С помощью маркера молекулярной массы (100 bp DNA Ladder BioLabs 500 мкг/мл) подтверждали соответствующие соответствующие размеры интересующего фрагмента искомого ампликона. В качестве положительного контроля использовали 2,5 мкл бактериальной культуры *E. coli* ATCC 25922 в концентрации 105 клеток/мл. Негативный контроль отражал наличие контаминации ПЦР реактивов бактериальной ДНК. Для этого, вместо опытных образцов, к ПЦР реактивам добавляли 2,5 мкл стерильной воды для инъекций (Микроген, Россия).

Статистическая обработка результатов выполнена на основе программы Statistica for Windows (version 5.0). Значение $P < 0.05$ считалось статистически значимым.

Р е з у л ь т а т ы **и с с л е д о в а н и я** **и** **и х о б с у ж д е н и е**. Использованные штаммы бактерий, относящиеся к представителям нормальной микрофлоры ротовой полости, изолированные у пациентов с несъемной аппаратурой при ортодонтическом лечении, образовывали моно и смешанные биопленки. Следует отметить, что полученный штамм стрептококков хорошо формировал биопленки в вы-

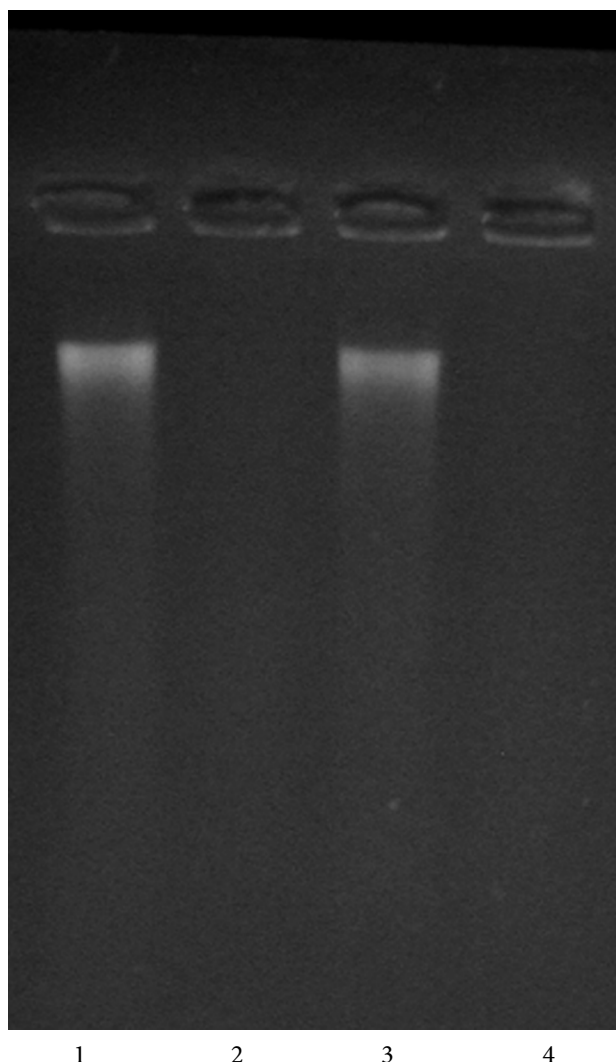


Рис. 1. Электрофореграмма внеклеточной ДНК матрикса микробных сообществ

1 – ДНК матрикса биопленки *S. mitis*; 2 – ДНК матрикса биопленки *S. mitis*, после обработки ДНКазой I; 3 – ДНК матрикса смешанной биопленки *S. mitis* + *N. sub flava*; 4 – ДНК матрикса смешанной биопленки *S. mitis* + *N. sub flava*, после обработки ДНКазой I

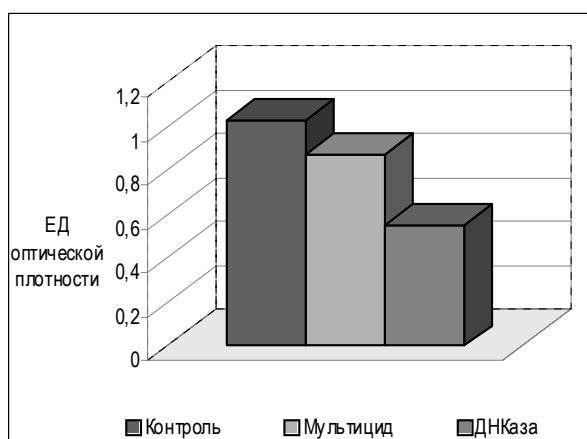


Рис. 2. Влияние антисептиков и ДНКазы на биомассу сформированных биопленок

бранных условиях, в то время как нейссерии как монокультура росли плохо. В то же время, в присутствии выбранного штамма стрептококков нейссерии формировали устойчивую смешанную биопленку.

В матриксе полученных биопленок была обнаружена внеклеточная ДНК. Во всех изученных пробах матрикса, полученного из моно- и смешанных биопленок, присутствует внеклеточная ДНК с молекулярной массой, примерно, 30 кб (рис. 1).

Использованный метод электрофоретического разделения в агарозном геле не показал различий в величине фрагментов ДНК матрикса, полученных из биопленок, образованных монокультурой стрептококка и смешанных сообществ, сформированных стрептококками и нейссериями. Внеклеточная ДНК, выделенная из смешанных биопленок, при электрофорезе в геле идет единым, не разделенным фронтом, не отличимым от фрагментов, обнаруженных в сообществах, сформированных бактериями одного типа. После обработки ДНКазой, наблюдалось полное исчезновение полосы, соответствующей 30 кб, полученной после фенольно-хлороформной экстракции из матрикса, что подтверждает природу данной молекулы как ДНК.

Добавление антисептиков и/или ДНКазы изменяло изученные свойства биопленок. В экспериментах были использованы хлоргексидин – 2000 мг/л, мультицид – 250 мг/л и ДНКазы – 10 мг/л. Концентрация хлоргексидина была выбрана как одна из наиболее используемых в стоматологии. Количества мультицида и ДНКазы были заведомо ниже, поскольку препараты находятся в стадии изучения. Снижение биомассы, зафиксированное фотометрически, обнаружено у всех типов биопленок в присутствии мультицида и ДНКазы 1 (рис 2).

Хлоргексидин обладает собственным поглощением в диапазоне использованных длин волн, что делает невозможным объективную оценку данного показателя. Снижение биомассы биопленок описано ранее в присутствии различных антибиотиков [3–5]. Установлено, что уменьшение количества внеклеточного матрикса указывает на увеличение доступности клеток биопленок по отношению к внешним воздействиям. Представляется, что аналогичная ситуация имеет место и при использовании антисептиков. Обращает на себя внимание, что в пределах использованных концентраций антисептиков и ДНКазы максимальное снижение биомассы зарегистрировано в присутствии фермента, действующего на внеклеточную ДНК.

Уровень снижения оптической плотности, в присутствии ДНКазы, мало различался в биопленках, образованных *S. mitis* и смешанной культурой *S. mitis* + *N. flava*.

Использованные антисептики показали высокую активность по отношению к бактериальным биопленкам и вызывали в них значительное снижение числа КОЕ (рис. 3).

Максимальное снижение числа жизнеспособных бактерий зарегистрировано в присутствии хлоргекси-

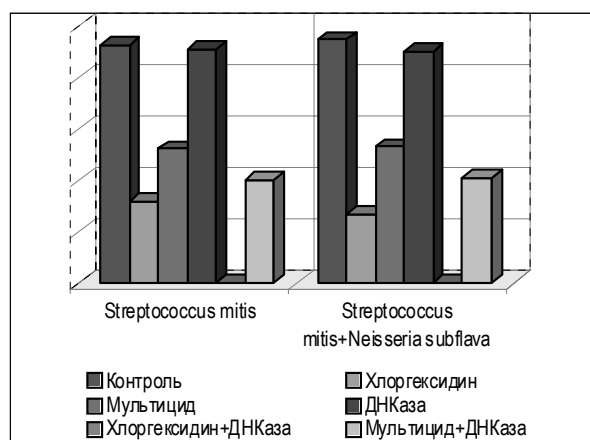


Рис. 3. Влияние антисептиков и ДНКазы на число КОЕ сформированных биопленок

дина. При действии данного антисептика число КОЕ в биопленках, образованных стрептококками или их ассоциацией с нейссериями, снижалось на 6 порядков. Мультицид в этих же условиях снижал число КОЕ на 4 порядка. Вместе с тем, эти данные не позволяют напрямую сравнивать два антисептика между собой, поскольку мультицид был использован в концентрации в 10 раз, меньшей чем хлоргексидин. Полученные результаты позволяют констатировать эффективное действие испытанных антисептиков на бактерии биопленок использованных штаммов. В присутствии ДНКазы 1 также было зарегистрировано незначительное снижение числа КОЕ. Совместное использование антисептиков и ДНКазы при действии на сформированные бактериальные биопленки приводило к потенцированию антимикробного действия. Хлоргексидин и ДНКазы в использованных концентрациях приводили к эрадикации биопленок. Совместное использование мультицида и ДНКазы увеличивало антимикробную активность в 10 раз по сравнению с действием одного антисептика. Полученные результаты совпадают с данными по потенцированию действия в присутствии ДНКазы различных неродственных антибиотиков [1, 5]. Способность ДНКазы усиливать действие катионного детергента недавно показана на примере биопленок стафилококка [14].

З а к л ю ч е н и е . Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что бактерии, относящиеся к нормальной микрофлоре ротовой полости, выделенные с поверхности зуба и несъемной аппаратуры при ортодонтическом лечении, в выбранных условиях образуют устойчивые биопленки. В матриксе биопленок, сформированных моно и смешанными культурами, присутствует внеклеточная ДНК размером около 30 кб. При действии на биопленки использованных антисептиков и ДНКазы в них происходит уменьшение биомассы и числа КОЕ. Максимальное снижение биомассы происходит в присутствии ДНКазы. Совместное использование антисептиков и ДНКазы приводит к значительному усилению антимикробного действия.

Список литературы

1. Тец Г.В., Артеменко К.Л. Совместное действие антибиотиков и дезоксирибонуклеазы на бактерии // Антибиотики и химиотерапия. – 2006. – Том 51. – С. 3–6.
2. Тец В.В. Бактериальные сообщества. В кн. Клеточные сообщества / под ред. В. Теца. – СПб: Изд-во СПбГМУ. – 1998. – С. 15–73.
3. Тец В.В. Бактериальные биопленки. Антимикробная терапия // Consilium medicum. – 2007. – Экстравыпуск. – С. 13–15.
4. Тец В.В., Артеменко Н.К., Заславская Н.В., Тец Г.В. Действие левофлоксацина на бактериальные биопленки // Клинико-лабораторный консилиум. – 2007. – 14. – С. 12–17.
5. Тец В.В. Бактериальные биопленки. Антимикробная терапия. // Consilium medicum. 2007, Экстравыпуск 13–15.
6. Тец В.В., Иванов С.Д., Тец Г.В., Писарева М.М., Ямшинов В.А. Влияние условий культивирования на содержание ДНК бактерий и проницаемость их мембран // Вестник РАМН. – 2005. – № 7. – С. 15–18.
7. В.В. Тец, М.М. Соловьев, А.П. Бобров, К.Л. Артеменко, И.Р. Мошквич, Г.В. Тец Применение фермента дезоксирибонуклеазы у больных с абсцессами и флегмонами челюстно-лицевой области // Стоматология. – 2006. – Том 85. – № 6. – С. 40–46.
8. Тец В.В., Орехова Л.Ю., Доморад А.А., Яковлева О.М., Щербакова Д.С., Румянцев О.К., Левкович Д.В., Томсон Н.В. Распространение возбудителей соматических заболеваний в нормальной микрофлоре ротовой полости // Пародонтология. – 2007. – № 4 (45). – С. 9–12.
9. Anker P, Stroun M. Circulating Nucleic Acids in Plasma or Serum // Ann. N Y Acad. Sci. – 2000. – P. 188.
10. Chambliss J., Hunt S., Stewart P. A Three-Dimensional Computer Model of Four Hypothetical Mechanisms Protecting Biofilms from Antimicrobials // Appl. Environ. Microbiol. – 2006. – Vol. 72. – P. 2005–2013.
11. Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections // Science – 1999. – Vol. 284. – P. 1318–1322.
12. Costerton W., Veeh R., Shirtliff M., Pasmore M., Post C., Ehrlich G. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections // Clin. Invest. – 2003. – Vol. 112. – P. 1466–1477.
13. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents // Nat. Rev. Drug Discov. – 2003. – Vol. 2. – P. 114–122.
14. Izano E.A., Amarante M.A., Kher W. B, Kaplan J.B. Differential Roles of Poly-N-Acetylglucosamine Surface Polysaccharide and Extracellular DNA in Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis Biofilms // Appl. Env. Microbiol. – 2008. – Vol. 74. – P. 2470–476
15. Fux C.A., J.W. Costerton Stewart P.S., Stoodley P. Survival strategies of infectious biofilms // Trends Microbiol. – 2005. – Vol. 13. – P. 34–40.
16. Moscoso, M., E. Garcia, and R. López. Biofilm Formation by Streptococcus pneumoniae: Role of Choline, Extracellular DNA, and Capsular Polysaccharide in Microbial Accretion // J. Bacteriol. – 2006. – Vol. 188. – P. 7785–7795.
17. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development // Ann. Rev. Microbiol. – 2000. – Vol. 54. – P. 49–79.
18. Petti S; Barbato E; Simonetti D'Arca A Effect of orthodontic therapy with fixed and removable appliances on oral microbiota: a six-month longitudinal study // New Microbiol. – 1997 – Vol. 20 – P. 55–62.

19. Steinberger R.E., Holden P.A. Extracellular DNA in Single- and Multiple-Species Unsaturated Biofilms // Appl. Environ. Microbiol. – 2005. – Vol. 71. – P. 5404–5410.

20. Tetz V.V. The effect of antimicrobial agents and mutagen on bacterial cells in colonies // Med. Microbiol. Lett. – 1996. – Vol. 5. – P. 426–436.

21. Tetz V. V., Rybalchenko O.V. Ultrastructure of colony-like communities of bacteria // APMIS. – 1997. – Vol. 105. – P. 99–107.

22. Tetz V.V., Rybalchenko O.V., Savkova G.A. Ultrastructure of surface film of bacterial colonies // J. Gen. Microbiol. – 1993. – Vol. 137. – P. 1081–1088.

23. Tetz V.V., Korobov V.P., Artemenko N.K., Lemkina L.M., Panjkova N.V., Tetz G.V. Extracellular phospholipids of isolated bacterial communities Biofilms. – 2004. – Vol. 1. – P. 149–155.

© Ю.А. Сухонос¹, В.Н. Покровский²,
А.С. Довгарь³, 2008

© Y.A. Sukhonos¹, V.N. Pokrovsky², A.S. Dovgar³,
2008

КОНЦЕПЦИЯ ТРАНСЦЕРВИКАЛЬНОЙ ЛАЗЕРНО-ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ

Ю.А. Сухонос¹, В.Н. Покровский², А.С. Довгарь³

¹Европейская Академия Естественных Наук

²Международный научно-технический центр «Здоровье, Спорт, Бизнес»

³Международный фонд доктора Сухоноса

Сухонос Ю.А., Покровский В.Н., Довгарь А.С. Концепция трансцервикальной лазерно-эндоскопической стерилизации // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 179–183.

Р е з ю м е : С 2004 года в Санкт-Петербурге (Международный Фонд доктора Сухоноса) был разработан, запатентован в России, Украине и внедряется способ лазерно-эндоскопической стерилизации, который принципиально отличается от используемых в мире. Ноу-хау способа доктора Сухоноса является использование с целью стерилизации хирургического лазера. Способ представляет собой гистероскопическую процедуру, в ходе которой с помощью лазера выполняется фотокоагуляция устьев обеих маточных труб в их интрамуральной части с целью окклюзии. Методика стерилизации предусматривает воздействие лазерного излучения на эпителий маточных труб, поэтому для выполнения процедуры оптимальным является использование гибкого гистероскопического оборудования.

К л ю ч е в ы е с л о в а : женская стерилизация, контрацепция, Международный Фонд доктора Сухоноса.

Sukhonos Yu. A., Pokrovsky V.N., Dovgar A.S. Concept of transcervical laser-endoscopic sterilisation // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 179–183.

S u m m a r y : Seit 2004 wurde in Sankt-Petersburg (die Internationale Doktor Sukhonos-Stiftung) die Methode der intratubalen Lasersterilisation ausgearbeitet, in Russland und in der Ukraine patentiert und wird eingeführt. Diese Methode unterscheidet sich grundsätzlich von anderen, die in der Welt verwendet werden. Besonderheit der Methode von Dr. Sukhonos besteht in der Verwendung eines chirurgischen Lasers bei der Sterilisation. Diese Methode ist eine hysteroskopische Prozedur. Sie ist auf der Anwendung des Lasers aufgebaut. Mit Hilfe des Lasers wird die Fotokoagulation der beiden Gebärmuttertuben in ihren intramuralen Teil mit Ziel der Okklusion erfüllt. Die Methode der Sterilisation sieht die Einwirkung der Laserstrahlung auf die Epithel der Gebärmuttertuben voraus, deswegen ist für die Ausführung der Prozedur die Verwendung der Fiberohysteroskope.

Решение проблемы демографии и ее аспектов в президентской программе В.В. Путина «Здоровье» и «Демография» требуют поиска, изучения и последующего внедрения новейших способов планирования семьи, которые максимально соответствовали бы современным требованиям к сохранению здоровья и улучшали бы качество жизни людей. Во всех без исключения семьях, всем мужчинам и женщинам это позволит обрести не только радость каждого дня, но и ценность здорового будущего.

Одним из наиболее популярных в мире способов профилактики нежелательной беременности для пар, уже имеющих детей, является добровольная стерилизация. Этот метод постоянной контрацепции в России в соответствии с Приложением 2 к приказу МЗ РФ от 28 декабря 1993 г. № 303 «О применении медицинской стерилизации граждан» осуществляется с согласия женщин при более чем 55 медицинских

показаниях, таких как злокачественные новообразования, сахарный диабет, пороки сердца, хроническая ишемическая болезнь сердца, злокачественная гипертония, психические расстройства, наследственные болезни, цирроз печени, СПИД. Это случаи, когда незапланированная беременность является угрозой жизни для женщины и может стать причиной рождения физически и умственно неполноценного ребенка. В таких ситуациях целесообразно предлагать женщине не химические контрацептивы, а, как способ выбора, – более физиологичную и разумную стерилизацию.

В США к стерилизации прибегают 39% женщин в возрасте от 18 до 44 лет, ежегодно таких операций проводится от 700 000 до 1 000 000. В Великобритании около 40% супружеских пар после 40 лет прибегают к использованию стерилизации, как метода профилактики нежелательной беременности.

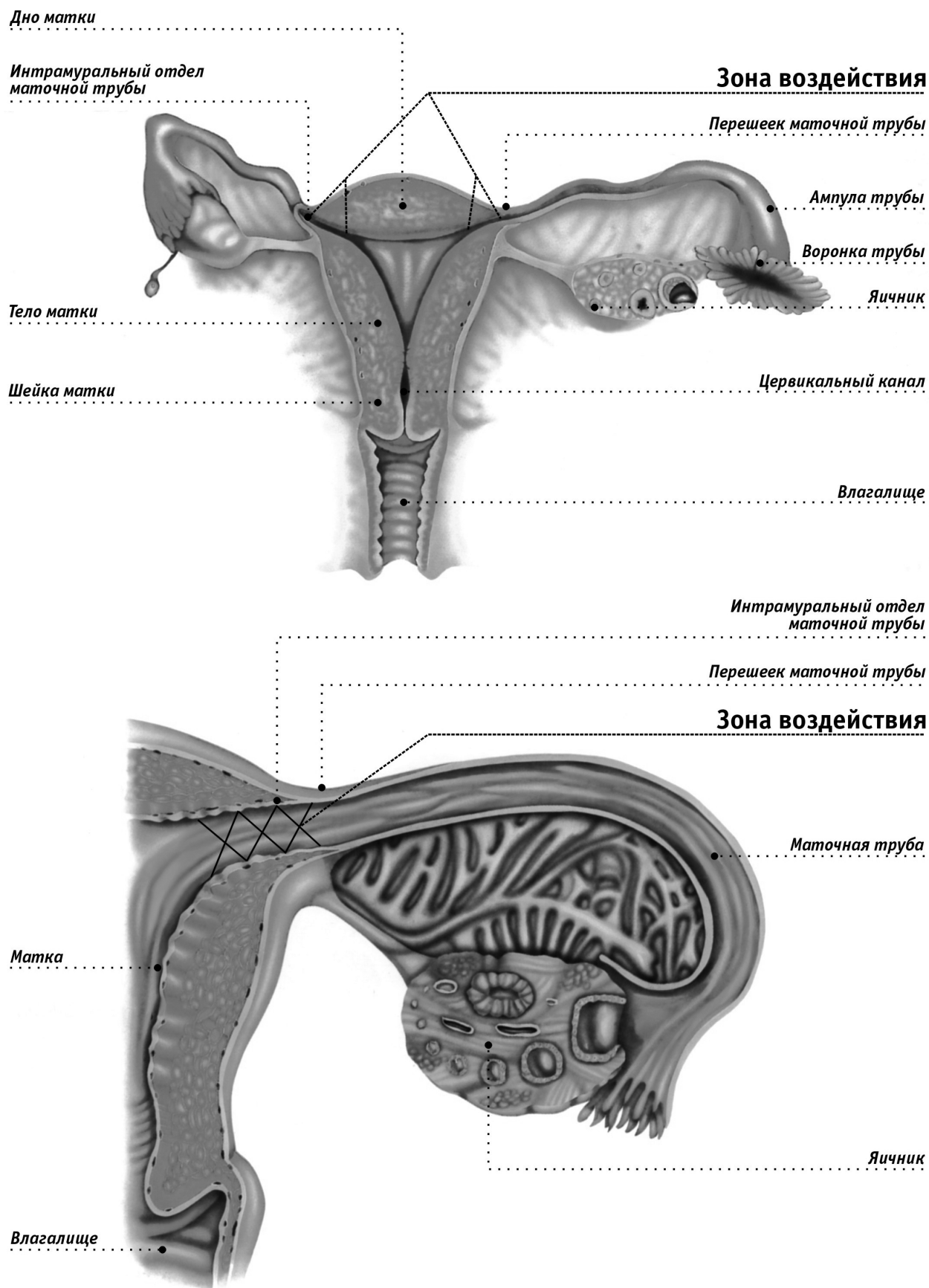


Рис. 1. Зона воздействия лазерным излучением на эпителий маточных труб по методу Сухоноса



Председатель Совета фонда, академик ЕАЕН Сухонос Ю.А.

По официальным данным Министерства Здравоохранения в России ежегодно около 25 000 женщин выбирают стерилизацию и подвергаются хирургической операции с пересечением маточных труб. Значительное количество пациенток подвергается операционной перевязке маточных труб в ходе подготовки к экстракорпоральному оплодотворению.

С каждым годом женская стерилизация становится общедоступной, популярной и применяется не только при наличии медицинских показаний, но и тогда, когда в семье есть 2 и более детей и женщина принимает осознанное решение больше их не рожать.

В России разрабатывается способ лазерно-эндоскопической, обратимой, трансцервикальной, внутритрубной стерилизации, который выгодно отличается от других используемых в мире способов стерилизации, отсутствием проникновения в брюшную полость.

Особый интерес данный способ представляет в связи с тем, что он может применяться в процессе подготовки женщины к экстракорпоральному оплодотворению с целью подготовки матки к деторождению. Кроме того, есть все основания предполагать, что данный способ будет очень востребован в ветеринарии.

Стерилизация по способу доктора Сухоноса проводится при помощи современного гистероскопического оборудования и лазера трансцервикальным доступом и представляет собой операционную гистероскопию, в ходе которой выполняется лазерная фотокоагуляция устьев обеих маточных труб в их интрамуральной части с целью акклюзии (рис. 1).

Длительность операции составляет 5–10 минут. Изобретателям известны необходимый тип лазера, требуемая мощность лазерного излучения и продол-



Академик РАМТН, д. м. н., профессор Баллюзек Ф.В.

жительность воздействия. Данная манипуляция может широко применяться в практике врача-гинеколога, владеющего навыками гистероскопии.

Технология внутритрубной стерилизации защищена в России пятью, на Украине двумя патентами.

С 2002 по 2004 год пилотные исследования способа в клинической практике, с согласия пациенток и с соблюдением юридических норм, проводились в отделении лазерной хирургии и фототерапии ЦКБ РАН Санкт-Петербурга под руководством академика РАМТН, д. м. н., профессора Баллюзека Ф.В. и с участием начальника отделения гинекологии, к. м. н., врача высшей категории Жигалова С.А.

В 2004 году по инициативе врачей разных специальностей с целью изучения возможности практического применения способа лазерно-эндоскопической стерилизации в гинекологии и ветеринарии и проведения научных исследований в этих двух направлениях был создан некоммерческий международный фонд доктора Сухоноса.

В 2005 году в Москве начало клинических испытаний способа лазерно-эндоскопической стерилизации было одобрено директором ГУ НЦ акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, главным акушером-гинекологом МЗ и СР РФ, Президентом Российской ассоциации планирования семьи, заведующим кафедрой акушерства, гинекологии и перинатологии ФППО ММА им. И.М. Сеченова, академиком и вице-президентом РАМН, з. д. н., профессором Кулаковым В.И.

Необходимо отметить, что для проведения стерилизации применялись и будут использоваться в дальнейшем лазеры российского производства, что обусловлено их высоким качеством при низкой стоимости. Это особенно важно в связи с поручением Президента России (2008 год, Пенза) о применении россий-

ских медицинских приборов и технологий при создании высокотехнологичных центров.

К проводимым фондом исследованиям в 2004 году был проявлен интерес со стороны руководства компании Карл Шторц (Туттлинген, Германия) и лично владелицы концерна госпожи Сибилл Шторц, ведется переписка. Концерн Карл Шторц является мировым лидером по производству инновационного и высококачественного эндоскопического оборудования для медицины и ветеринарии.

В связи с изучением возможности практического применения способа трансцервикальной внутритрубной лазерно-эндоскопической стерилизации перед фондом в ближайшем будущем ставятся следующие задачи:

1. В рамках внедрения президентской программы В.В. Путина «Здоровье» и «Демография» организовать научно-исследовательские работы по изучению вышеизложенной темы.

2. Добиться целевого выделения бюджетных средств и получить разрешение на начало официальных клинических испытаний предлагаемого способа в этических комитетах профильных институтов и клиник.

3. Приступить к началу официальных клинических испытаний.

4. При подтверждении эффективности и безопасности для женщины предлагаемого способа получить разрешение на применение новой медицинской технологии.

5. За счет использования нового способа добиться улучшения качества жизни женщин, имеющих медицинские показания для проведения стерилизации, добиться снижения риска рождения неполноценных детей, а также более широкого применения метода для профилактики нежелательной беременности у женщин, желающих его использовать.

6. Включить способ лазерно-эндоскопической стерилизации в программу подготовки женщин, нуждающихся в стерилизации перед экстракорпоральным оплодотворением.

7. Исследовать возможность практического использования лазерно-эндоскопической стерилизации у женщин, больных СПИДом, для профилактики трансмиссивного пути передачи данного заболевания.

8. Приступить к практическому использованию способа лазерно-эндоскопической стерилизации. На начальном этапе возможно практическое использование метода в следующих медицинских учреждениях:

– в Москве: ГУ НЦ акушерства, гинекологии и перинатологии Росмедтехнологий (Адамян Л.В.), Национальный Медико-Хирургический Центр им. Н.И. Пирогова (Кира Е.Ф.);

– в Санкт-Петербурге: СПбГМА им. И.И. Мечникова (Шабров А.В.), ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН (Айламазян Э.К.), ЦКБ РАН Санкт-Петербурга (Баллюзек Ф.В.), Международная клиника МЕДЕМ (Стрельников А.А.);

– в России на базе отделений РАПС в 48 регионах страны (Ерофеева Л.В.);

– научная работа по ветеринарии может быть проведена: в Москве – клиника российской ветеринарной ассоциации (Ткачев-Кузьмин А.В.), в Санкт-Петербурге – клиника им. Айвэна Филлмора (Микичук Ю.П.).

Целесообразность и возможность проведения испытаний способа в 2005 году отметили заместитель директора НЦАГиП по научной работе, академик РАМН, д. м. н., профессор Серов В.Н. и руководитель инновационного отделения малоинвазивных технологий НЦАГиП, д. м. н., профессор Саркисов С.Э.

В 2007 году целесообразность и возможность проведения такой научной работы отметили: в Санкт-Петербурге: директор ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, академик РАМН, з. д. н., профессор Айламазян Э.К., в Москве: заместитель директора НЦАГиП Росмедтехнологий по научной работе, руководитель отделения оперативной гинекологии, вице-президент Ассоциации гинекологов-эндоскопистов России, академик РАМН, д. м. н., профессор Адамян Л.В.

За целесообразность проведения исследований высказались и проявили интерес к проводимой работе: Главный акушер-гинеколог НМХЦ им. Н.И. Пирогова, д. м. н., профессор Кира Е.Ф., Руководитель Санкт-Петербургского и Северо-Западного центров лазерной медицины, заведующий кафедрой малоинвазивной, реконструктивно-пластической и лазерной хирургии, д. м. н., профессор Савинов И.П., Генеральный директор Российской Ассоциации планирования семьи Ерофеева Л.В., Президент Российской Ветеринарной Ассоциации, к. в. н. Ткачев-Кузьмин А.В.

Технология трансцервикальной внутритрубной стерилизации является новой. К использованию на территории Российской Федерации она предлагается впервые. Сведения о применении данной или аналогичной медицинской технологии за рубежом отсутствуют. Первый в мире уникальный практический опыт применения внутритрубной лазерной стерилизации по способу доктора Сухоноса позволяет утверждать, что метод эффективен и требует дальнейших клинических исследований.

Делать выводы о предполагаемой медико-социальной и экономической эффективности предлагаемой технологии стерилизации можно, отталкиваясь от информации представляемой рядом зарубежных компаний, проанализировавших высокую востребованность в мире и большую социальную значимость женской стерилизации, как способа профилактики нежелательной беременности и как следствие – аборта.

Пока в России стерилизация не настолько популярна, как за рубежом, но, учитывая все ее преимущества и достоинства для взрослых женщин в сравнении, в первую очередь, с оральными контрацептивами, есть все основания предполагать, что стерилизация будет со временем более популярна, чем сейчас.

Тем более важно предложить российским женщинам современный, малоинвазивный, гуманный способ профилактики нежелательной беременности. Есть все основания предполагать, что использование способа лазерно-эндоскопической стерилизации позволит женщине при ее желании восстановить детородную функцию. Тем самым защищается право женщины и возможность рожать детей даже после стерилизации.

С 22 по 25 сентября 2008 года предлагаемая технология была представлена на проходящей в Санкт-Петербурге 13 Международной выставке-конгрессе «Высокие технологии. Инновации. Инвестиции» (Hi-Tech) и обсуждалась 23 сентября на заседании круглого стола Международного Европейского научно-технического центра (МЕНТЦ) «Здоровье, Спорт, Бизнес» по теме «Высокие технологии в медицине, в том числе биотехнологии».

Учитывая возможность использования предлагаемой технологии для профилактики незапланирован-

ной беременности у женщин, страдающих туберкулезом и ВИЧ-инфекцией, руководством Германно-Российского Форума имени Коха и Мечникова, рассматривается вопрос о проведении на базе Санкт-Петербургской Государственной Медицинской Академии им. И.И. Мечникова клинических испытаний технологии и создание на базе Форума секции репродуктивной медицины с международной программой по стерилизации. Предполагается использование возможностей компании KARL STORZ GmbH & Co. KG и Международного Фонда доктора Сухоноса.

В рамках проводимого симпозиума Кох-Мечников особая ценность способа лазерно-эндоскопической стерилизации женщин, как метода профилактики нежелательной беременности, заключается в возможности его практического осуществления на территориях с широким распространением СПИД для прерывания пути передачи этой инфекции от матери к ребенку.

© Э.Ф. Аглетдинов, Ф.Х. Камилов, Е.К. Алехин,
К.В. Булыгин, Л.О. Макашева, 2008
© E.F. Agletdinov, F.H. Kamilov, E.K. Alehin,
K.V. Bulygin, L.O. Makasheva, 2008

ГОНАДОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОТРАВЛЕНИЯ КСЕНОБИОТИКАМИ

Э.Ф. Аглетдинов, Ф.Х. Камилов, Е.К. Алехин, К.В. Булыгин, Л.О. Макашева

Башкирский государственный медицинский университет Росздрава, Уфа, Россия

Аглетдинов Э.Ф., Камилов Ф.Х., Алехин Е.К., Булыгин К.В., Макашева Л.О. Гонадотоксическая активность полихлорированных бифенилов в условиях экспериментального отравления ксенобиотиками // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 183–187.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации», Россия, Уфа

Резюме. В экспериментальных условиях изучены некоторые токсические эффекты смеси полихлорированных бифенилов «Совол» на репродуктивную систему крыс самцов. Полученные данные свидетельствуют о развитии тяжелого окислительного стресса в тканях семенников. Обнаружено существенное снижение сывороточной концентрации тестостерона, эстрадиола, а также значительное уменьшение концентрации сперматозоидов в гомогенате семенников и эякуляте экспериментальных животных. Выявленные сдвиги могут вносить существенный вклад в патогенез нарушений мужской фертильности в условиях интоксикации стойкими органическими загрязнителями.

Summary: The aim of the present study was to determine the influence of commercial mixture of polychlorinated biphenyls «Sovol» on reproductive system of male rats. The results of these experiments shows that PCBs significantly decreases the body and testes weights, the number of sperm cells in ejaculate and testicular tissue, blood levels of testosterone and estradiole. In addition the increasing of peroxidation was observed. These results suggest that revealed disorders may play an important role in pathogenesis of male infertility, caused by persistent organic pollutants.

Одной из глобальных проблем человечества является тотальное загрязнение окружающей среды многочисленными химическими веществами. Исследования последних лет показывают, что стойкие органические загрязнители (СОЗ) обладают широким спектром биологического действия [2, 21, 24, 27]. Механизмы их биологического действия сложны и многообразны. Характер и степень влияния различных токсикантов на организм человека и животных во многом определяются возможностями сложных биохимических систем метаболизма ксено-

биотиков, антирадикальной защиты и репарации поврежденных биологических молекул.

К одной из групп СОЗ относятся полихлорированные бифенилы (ПХБ), представляющие серьезную угрозу здоровью человека и животных [2, 11]. В настоящее время производство и применение ПХБ запрещено Стокгольмской конвенцией [27]. Тем не менее, их массовое и повсеместное поступление в окружающую среду в течение десятилетий привело к накоплению в объектах биосферы сотен тысяч тонн ПХБ в свободном виде [21, 24]. По некоторым оценкам, в ор-

ганизм человека ежесуточно попадает до 100 нг ПХБ [3]. Высокая липофильность объясняет способность бифенилов к накоплению в пищевой цепи, а в последующем в органах с высоким содержанием липидов и активным стероидогенезом, таких как нервная ткань, надпочечники, яичники, яички [7, 11]. В результате развиваются многоуровневые патохимические сдвиги, лежащие в основе нейро-, гепато-, иммунотоксичности, эндокринных, кардиоваскулярных, канцерогенных и других эффектов ПХБ [10, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 28, 29].

Имеющиеся сведения о влиянии ПХБ на репродуктивную функцию человека и животных не дают исчерпывающего представления о молекулярных механизмах репротоксического действия этих соединений [9, 10, 20, 22]. В литературе представлены сведения, доказывающие, что токсические проявления ПХБ могут быть ассоциированы с гиперпродукцией активных форм кислорода (АФК). Другим необходимым условием нарушения оксидантного баланса является несоответствие ресурсов специфических систем детоксикации тому или иному уровню свободно-радикального окисления.

Важная роль окислительного стресса установлена в патогенезе многих нарушений, в том числе, угнетения мужской фертильности [4, 5].

Целью исследования явилось изучение стероидогенной и сперматогенной функции семенников крыс, а также оксидантного статуса тканей семенников крыс в условиях интоксикации бифенилами в различных дозах.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования выполнены на белых беспородных крысах-самцах половозрелого возраста массой 180–220 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария. При выполнении экспериментов соблюдались «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных». [1]. Экспериментальную интоксикацию вызывали внутрижелудочным введением раствора «Совол», включающего 26% тетра-, 64,6% пента-, 9% гексахлорбифенилов и следовые количества гептахлорбифенилов. Подострое отравление осуществляли ежедневным введением токсиканта в течение 28 дней в суммарных дозах 300 мг/кг ($0,05 LD_{50}$) и 600 мг/кг ($0,1 LD_{50}$). Контрольным группам животных вводили оливковое масло. По достижении срока исследования у части подопытных животных путем трансректальной электростимуляции получали эякулят и проводили его качественно-количественное исследование в камере Горяева. Другую часть животных декапитировали, получали сыворотку крови, извлекали семенники, взвешивали и готовили гомогенат, который использовали в дальнейших исследованиях.

Для оценки состояния сперматогенеза, выполняли подсчет сперматозоидов в гомогенате семенников. Сывороточные уровни тестостерона и эстрадиола определяли методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов ЗАО «АлкорБио»

(Санкт-Петербург). Содержание активных соединений тиобарбитуровой кислоты (ТБК-РП) и общую антиокислительную активность определяли с помощью диагностических наборов производства ООО «Агат-Мед» (Россия) и «Randox» (Великобритания) соответственно. Математическую обработку проводили с применением вариационной статистики и определения t-теста при помощи пакета Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. Интоксикация полихлорированными бифенилами сопровождалась прогрессирующим снижением массы тела и семенников экспериментальных животных (табл. 1).

Таблица 1

Масса тела и внутренних половых органов крыс-самцов, подвергшихся интоксикации полихлорбифенилами, г ($M \pm m$, $n = 30$)

Показатель	Группы животных		
	Контроль	$0,05 LD_{50}$	$0,1 LD_{50}$
Вес тела	$196,9 \pm 2,4$	$183,14 \pm 2,11^*$	$161,9 \pm 2,56^{* \#}$
Семенники	$1,27 \pm 0,06$	$1,1 \pm 0,03^*$	$0,93 \pm 0,03^{* \#}$

Примечание. Здесь и далее * – $p < 0,05$ с группой контроля; # – $p < 0,05$ между группами $0,05 LD_{50}$ и $0,1 LD_{50}$.

При этом направленность и степень редукции изучаемых показателей носила отчетливый дозозависимый характер. Наиболее значительное уменьшение параметров наблюдалось в группе крыс, получавших «Совол» в суммарной дозе $0,1 LD_{50}$. Однако, статистически значимое падение массы тела и семенников было зафиксировано уже при воздействии меньшей дозы поллютанта ($0,05 LD_{50}$).

Содержание тестостерона в сыворотке крови последовательно снижалось под воздействием ПХБ и при суммарной дозе токсиканта $0,1 LD_{50}$ составило 74,2168,43% от уровня контроля (рис. 1). Концентрация эстрадиола, напротив, сначала достоверно увеличивалась на 22,4% ($0,05 LD_{50}$), а затем уменьшалась до 75,8% ($0,05 LD_{50}$) от контрольных значений.

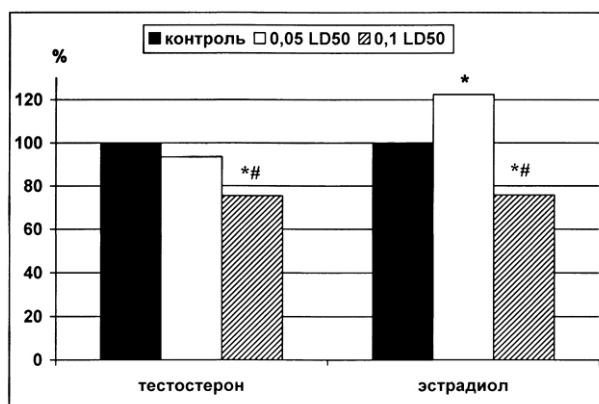


Рис. 1 Содержание тестостерона и эстрадиола в сыворотке крови самцов крыс, % ($n = 30$)

В гомогенате семенника зафиксировано падение концентрации сперматозоидов более чем в два раза (табл. 2). Анализ эякулята также выявил серьезные изменения его количественных и качественных характеристик. Так, общая концентрация сперматозоидов снижалась на 18,9%. Катастрофически увеличивалась доля функционально неполноценных гамет. В группе 0,1 LD₅₀ сперматозоидов с поступательным движением не обнаружено, а почти треть всех клеток полностью потеряла какую-либо двигательную (колебательную и поступательную) активность (табл. 3).

Таблица 2

Содержание сперматозоидов на 100 мг ткани семенника крыс, подвергшихся экспериментальной интоксикации ПХБ (M ± m, n = 30)

Показатель	Группы животных		
	Контроль	0,05 LD ₅₀	0,1 LD ₅₀
Сперматозоиды, x10 ⁷	27,5 ± 1,7	14,9 ± 1,61*	11,4 ± 1,6*

Таблица 3

Влияние интоксикации ПХБ на содержание и функциональное состояние сперматозоидов в эякуляте крыс самцов, млн/мл (M ± m, n = 30)

Показатель	Группы животных		
	Контроль	0,05 LD ₅₀	0,1 LD ₅₀
Сперматозоиды	38,6 ± 2,5	35,6 ± 2,32	31,3 ± 2,54*
с поступательным движением	9,5 ± 0,51	3,0 ± 0,49*	0
с колебательным движением	25,2 ± 1,34	14 ± 1,52*	5,8 ± 1,14*#
Неподвижные	2,7 ± 0,52	19,8 ± 1,89*	28,7 ± 1,97*#

Согласно полученным данным, интоксикация соволом сопровождалась различной степенью повышения содержания в семенниках крыс соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (табл. 4). При этом наблюдалось дозозависимое изменение исследуемых параметров общей антиоксидантной активности ткани.

Таблица 4

Содержание ТБК-РП и общей антиокислительной активности в семенниках самцов крыс, подвергшихся отравлению «Соволом» (M ± m, n = 30)

Показатель	Группы животных		
	Контроль	0,05 LD ₅₀	0,1 LD ₅₀
ТБК-РП, мкмоль/г ткани	2,94 ± 0,28	5,92 ± 0,29*	10,26 ± 0,34*#
ОАА, % торможения	69,27 ± 5,9	60,0 ± 5,2	47,40 ± 4,5*

Усиление образования вторичных продуктов перекисидации при интоксикации дозой 0,05 LD₅₀ составило в исследуемом органе 201,36% от аналогичных показателей у интактных животных. У крыс, получавших совол в дозе 0,1 LD₅₀, было выявлено практически

более чем трехкратное повышение уровня ТБК-РП (348,98% от уровня контроля) в семенниках по отношению к контролю.

Анализируя полученные экспериментальные данные в целом, можно утверждать, что отравление «Соволом» приводит к серьезному поражению структуры и функции репродуктивной системы крыс-самцов. Обнаруженное нами существенное снижение весовых показателей тела и семенников согласуется с результатами ряда исследований [12]. В наших экспериментах концентрация сперматозоидов и, особенно, их качественные характеристики существенно ухудшались с увеличением дозы токсиканта. Столь драматические сдвиги могут быть результатом уменьшения размеров семенных канальцев и угнетения андрогенотенеза [6]. Выполненный иммуноферментный анализ сывороточного тестостерона и эстрогена выявил сложные нарушения стероидогенеза. Наблюдавшееся увеличение уровня эстрадиола в крови при подострой интоксикации соволом в дозе 0,05 LD₅₀ вероятно является следствием первоначального усиления активности ароматазы. Воздействие большей дозы экополлютанта сопровождалось однозначным снижением содержания обоих стероидов. Это может быть следствием, с одной стороны, усиления их метаболизма, с другой – угнетения стероидогенеза посредством интегрирования 3β-гидроксистероиддегидрогеназы, 17β альфагидроксилазы/лиазы и 17βгидроксистероиддегидрогеназы [6]. Активность конверсии тестостерона в эстрогены под действием ПХБ, согласно некоторым данным, также падает (13). Очевидно, что процессы снижения массы яичек и содержания тестостерона в крови экспериментальных животных формируют замкнутый патогенетический круг, с каждым оборотом которого наблюдается углубление метаболических и структурно-функциональных нарушений.

В целом, полученные данные в достаточной степени соотносятся с гипотезой глобального ухудшения репродуктивной способности мужчин. Выполненные популяционные исследования подтверждают, что на протяжении нескольких последних десятилетий наблюдается постоянное снижение качества спермы человеческой популяции в целом [23, 25]. Большинство авторов считают очевидной связь выявленных тенденций с изменявшимися на протяжении прошлого века внешними факторами и, прежде всего, прогрессивным ростом уровня загрязнения окружающей среды [8, 14, 26]. В пользу этого предположения говорит и тот факт, что абсолютное большинство экополлютантов появились именно в середине прошлого века и имеют искусственное антропогенное происхождение.

К сожалению, патогенетические механизмы токсического повреждения мужской репродуктивной функции при отравлении стойкими органическими загрязнителями остаются на сегодняшний день недостаточно ясными и требуют дальнейшего изучения.

Рассматривая обнаруженные патохимические сдвиги оксидантного статуса семенников крыс в условиях интоксикации полихлорбифенилами в совокуп-

ности, необходимо подчеркнуть их тесную связь и взаимообусловленность. Полученные экспериментальные данные убедительно доказывают стремительное развитие мощного ПХБ-индуцированного окислительного стресса в тестикулярной ткани экспериментальных животных. Это может являться следствием активации системы суперсемейства цитохрома P-450, отвечающей за гидроксилирование бифенилов с целью их дальнейшей утилизации [16, 19] Интенсификация микросомального окисления как источника свободных радикалов влечет инициацию с последующей эскалацией процессов липопероксидации клеточных структур и, очевидно, может считаться одним из пусковых механизмов токсичности полихлорбифенилов.

Таким образом, результаты настоящего экспериментального исследования показывают, что подострое отравление «Соволом» сопровождается выраженным угнетением стероидогенеза, сперматогенеза и развитием тяжелого окислительного стресса в семенниках крыс, что подтверждает наличие у полихлорированных бифенилов выраженных репротоксических свойств, главным проявлением которых является тестикулярная недостаточность.

Список литературы

1. Касаткина, Т.Б., Капланский А.С. Этика экспериментальных исследований животных в Космической биологии и медицине // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. – 2000. – № 2. – С. 17–21.
2. Майстренко В.Н., Ключев Н.А. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. – 323 с.
3. Толстомятова, Г.В. Токсикологическая характеристика полихлорированных бифенилов (обзор литературы) / Г.В. Толстомятова, В.И. Коркач // *Врачебное дело*. – 1982. – № 7. – С. 52–60.
4. Agarwal A., Gupta S. Sikka S. The role of free radicals and antioxidants in reproduction // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* – 2006. – Vol. 18. – P. 325–332.
5. Aitken R.J., Baker M.A. Oxidative stress, sperm survival and fertility control. // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2006. – Vol. 250. – С. 66–69.
6. Andric S.A., Kostic T.S., Stojilkovic S.S., Kovacevic R.Z. Inhibition of rat testicular androgenesis by a polychlorinated biphenyl mixture Aroclor 1248 // *Biol. Reprod.* – 2000. – Vol. 62. – 1882–1888.
7. Bessmann A. Accumulation of polychlorinated biphenyls in steroidogenic tissue of gonads and adrenals in Japanese quail // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* – 1981. – Vol. 10. – P. 653–662.
8. Comhaire F.H., Mahmoud A.M., Schoonjans F. Sperm quality, birth rates and the environment in Flanders (Belgium) // *Reprod. Toxicol.* – 2007, Feb. – Vol. 23 (2). – 133–137. Epub 2006 Nov 9.
9. Cooke P.S., Zhao Y.D., Hansen L.G. Neonatal polychlorinated biphenyls treatment increases adult testis size and sperm production in the rat // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 136. – P. 112–117.
10. Faroon O.M., Keith S., Jones D., de Rosa C. Effects of polychlorinated biphenyls on development and reproduction // *Toxicol. Ind. Health.* – 2001. – Vol. 17. – P. 63–93.
11. Feshin D.B., Komarova K.A., Zheltov V.F., Brodsky E.S., Kalinkevich G.A., Shelepchikov A.A., Bukhanko N.G. Bioaccumulation and Distribution of PCBs in Hens and Chickens Organohalogen compounds. – 2005. – P. 1498–1501.
12. Gray L. E Jr, Ostby J., Marshall R., Andrew J. Reproductive and thyroid effects of low level polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) exposure // *Fundam. Appl. Toxicol.* – 1993. – Vol. 20. – P. 288–294.
13. Hany J., Lilienthal H., Sarasin A., Roth-Harer A., Fastabend A., Dunemann L. et al. Development exposure to a reconstituted PCB mixture or Aroclor 1254: Effect on organ weights, aromatase activity, sex hormone levels, and sweet preference behavior. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 158. – P. 231–43.
14. Hauser R, Altshul L, Chen Z, Ryan L, Overstreet J, Schiff I, Christiani DC. Environmental organochlorines and semen quality: results of a pilot study. *Environ. Health Perspect.* – 2002 Mar. – Vol. 110 (3). – P. 229–233.
15. Laden F, Ishibe N., Hankinson S.E., Wolff M.S., Gertig D.M., Hunter D.J., Kelsey K.T. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2002. – Vol. 11. – P. 1560–1565.
16. Lee Y.W., Park H.J., Son K.W., Hennig B., Robertson L.W., Toborek M. 2,2',4,6,6'-pentachlorobiphenyl (PCB 104) induces apoptosis of human microvascular endothelial cells through the caspase-dependent activation of CREB // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 189. – P. 1–10.
17. Loch-Caruso R. Uterine muscle as a potential target of polychlorinated biphenyls during pregnancy // *Int. J. Hyg. Environ. Health.* – 2002. – Vol. 205. – P. 121–130.
18. Machala M., Neca J., Drabek P., Ulrich R., Sabatova V., Nezveda K., et al. Effects of chronic exposure to PCBs on cytochrome P450 systems and steroidogenesis in liver and testis of bulls (*Bos taurus*) // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* – 1998. – Vol. 120. – 65–70.
19. Oliver J.D., Roberts R.A. Receptor-mediated hepatocarcinogenesis: role of hepatocyte proliferation and apoptosis // *Pharmacol. Toxicol.* – 2002. – Vol. 91. – P. 1–7.
20. Portigal C.L., Cowell S.P., Fedoruk M.N., Butler C.M., Rennie P.S., Nelson C.C. Polychlorinated biphenyls interfere with androgen-induced transcriptional activation and hormone binding // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 179. – P. 185–94.
21. Revich B., Sergeev O., Shelepchikov A., Brodsky E., Zeilert V., Kretov I. POPs in the environment, food, breast milk and blood of local resident. recommendations for environmental remediation Organohalogen compounds. – Chapaevsk, Russia, 2006. – Vol. 68. – P. 2351–2354.
22. Rozati R, Reddy PP, Reddanna P, Mujtaba R. Xenoestrogens and male infertility: myth or reality? // *Asian J. Androl.* – 2000. – № 2. – P. 263–69.
23. Sripada S., Fonseca S., Lee A., Harrild K., Giannaris D., Mathers E., Bhattacharya S. Trends in semen parameters in the northeast of Scotland // *J. Androl.* – 2007, Mar-Apr. – Vol. 28 (2). – 313–319. Epub 2006 Nov 1.
24. Supriyo De. I., Saroj K., Pramanik 2, Arthur L., Williams 2 and Sisir K., Dutta 1 Toxicity of Polychlorobiphenyls and its Bioremediation // *Int. J. Hum. Genet.* – 2004. – Vol. 4 (4). – P. 281–290.
25. Swan S.H., Elkin E.P., Fenster L. The question of declining sperm density revisited: an analysis of 101 studies published 1934–1996 // *Environ. Health. Perspect.* – 2000 Oct. – Vol. 108 (10). – 961–966.
26. Toft G., Rignell-Hydbom A., Tyrkiel E., Shvets M., Giwercman A., Lindh C. H., Pedersen H. S., Ludwicki J. K., Lesovoy V., Hagmar L., Spanó M., Manicardi G. C., Bonefeld-Jorgensen E. C., Thulstrup A. M., Bonde J. P. Semen quality and exposure to persistent organochlorine pollutants // *Epidemiology.* – 2006 Jul. – Vol. 17 (4). – 450–458.

27. United Nations Environment Programme. UNEP chemicals homepage. [Division of Technology, Industry, and Economics. Chemicals. Stockholm Convention.] Available at: <http://www.chem.unep.org>.

28. Winneke G., Walkowiak J., Lilienthal H. PCB induced neurodevelopmental toxicity in human infants and its potential

mediation by endocrine dysfunction // *Toxicology*. – 2002. – P. 181–182, P. 161–165.

29. Yamada-Okabe T., Aono T., Sakai H., Kashima Y., Yamada-Okabe H. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin augments the modulation of gene expression mediated by the thyroid hormone receptor // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 194. – 201–210.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

SHORT COMMUNICATIONS

© В.Г. Агишев, Н.Э. Иванова, Д.В. Фаддеев,
Б.М. Сливинский, О.Я. Глушко, С.В. Чугунова,
2008
© V.G. Agishev, N.E. Ivanova, D.V. Faddeev,
B.M. Slivinskii, O. Ya. Glushko, S.V. Chugunova,
2008

СОЧЕТАНИЕ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ И ПСИХИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ У ПАЦИЕНТОВ ГОРОДСКОЙ ПСИХИАТРИЧЕСКОЙ БОЛЬНИЦЕ № 3 ИМ. И.И. СКВОРЦОВА-СТЕПАНОВА

В.Г. Агишев, Н.Э. Иванова, Д.В. Фаддеев, Б.М. Сливинский, О.Я. Глушко, С.В. Чугунова
*Городская психиатрическая больница № 3 имени И.И. Скворцова-Степанова,
Санкт-Петербург, Россия*

Агишев В.Г., Иванова Н.Э., Фаддеев Д.В., Сливинский Б.М., Глушко О.Я., Чугунова С.В. Сочетание ВИЧ-инфекции и психических расстройств у пациентов Городской психиатрической больницы № 3 имени И.И. Скворцова-Степанова // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 188–191.

Санкт-Петербургское Государственное Учреждение Здравоохранения «Городская психиатрическая больница № 3 имени И.И. Скворцова-Степанова», Россия, Санкт-Петербург, 197341, Фермское шоссе, 36, тел.: 8 (812) 301–04–37, факс: 8 (812) 301–86–54, e-mail: bsp@zdrav.spb.ru

Agishev V. G., Ivanova N.E., Faddeev D.V., Slivinskii B.M., Glushko O. Ya., Chugunova S.V. Combination of HIV-infection and psychic disorders in patients of the city psychiatric hospital № 3 named after I.I. Skvortsov-Stepanov // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 188–191.

Впервые ВИЧ-инфекция была диагностирована в Городской психиатрической больнице № 3 имени И.И. Скворцова-Степанова (далее – ГПБ № 3) в 1999 году у 4-х пациентов с психотической симптоматикой, госпитализированных из всех районов Санкт-Петербурга. С 1999 до 2007 года ВИЧ-инфекция отмечена среди вновь поступивших больных в 481 случае. Наибольшее количество ВИЧ-инфицированных пациентов было выявлено в 2001 году – 87 случаев.

С учётом актуальности проблемы нами был проведён ретроспективный эпидемиологический анализ ВИЧ-инфекции за период с 2003 по 2007 год, так как практически все ВИЧ-инфицированные пациенты с психическими расстройствами в этот период госпитализировались в ГПБ № 3.

С 2003 по 2007 в нашем стационаре зарегистрировано 299 случаев ВИЧ-инфекции. Все случаи ВИЧ-инфекции являлись заносными. Летальных исходов от ВИЧ-инфекции не наблюдалось.

В таблице 1 представлена динамика уровня ВИЧ-инфекции в ГПБ № 3 за 2003–2007 годы.

Таблица 1

Динамика уровня ВИЧ-инфекции в ГПБ № 3
за 2003–2007 годы

Показатели	2003	2004	2005	2006	2007
Количество ВИЧ-инфицированных (чел.)	50	56	79	71	43
% от общего числа госпитализированных в психиатрические стационары города	--	--	0,29%	0,26%	0,16%

Установлено, что максимальный уровень ВИЧ-инфекции отмечен в 2005 году: показатель на 1000 госпитализированных пациентов составил 2,9 (79 случаев). С 2003 по 2005 годы отмечен подъём ВИЧ-инфекции, за последние 3 года исследуемого периода (2005–2007 годы) – спад до 1,6.

Показатели соответственно составили 2,9; 2,6; 1,6.

Однако, за последние 6 месяцев 2008 года с ВИЧ-инфекцией уже выявлено 39 пациентов (в 2007 году – 43 чел.), из них 3 подростка. Отмечена тенденция роста.

В структуре ВИЧ-инфицированных (2003–2007 годы) (рис. 1, табл. 2) первое место – 47,5%, занимают пациенты с психическими расстройствами (шизофрения, органическое поражение головного мозга, депрессивный синдром, суицидная попытка). Доля наркозависимых – 27,1% и лиц, страдающих от алкоголизма – 25,4%. Подростки составляют около 11% (от 3 до 10 случаев ежегодно).

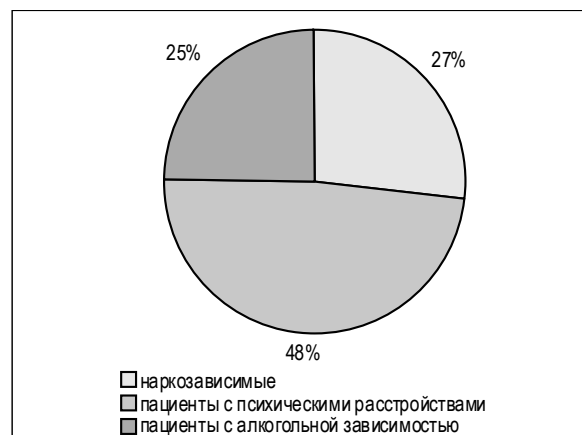


Рис. 1. Общая структура ВИЧ-инфицированных за 2003–2007 годы

Таблица 2

Структуре ВИЧ-инфицированных (2003–2007 годы)

Пациенты	2003		2004		2005		2006		2007	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
ВИЧ-инфицированные, из них	50	100	56	100	79	100	71	100	43	100
Наркозависимые	16	32	11	19,6	25	31,6	20	28,2	9	20,9
пациенты с психическими расстройствами	21	42	24	42,9	35	44,3	38	53,5	24	55,8
пациенты с алкогольной зависимостью	13	26	21	37,5	19	24,1	13	18,3	10	23,2

Необходимо отметить, что в современный период возрастает доля ВИЧ-инфицированных среди больных с психическими расстройствами: соответственно 2003, 2004, 2005, 2006 и 2007 годам – 42% – 42,9% – 44,3% – 53,5% – 55,8% (рис. 2).

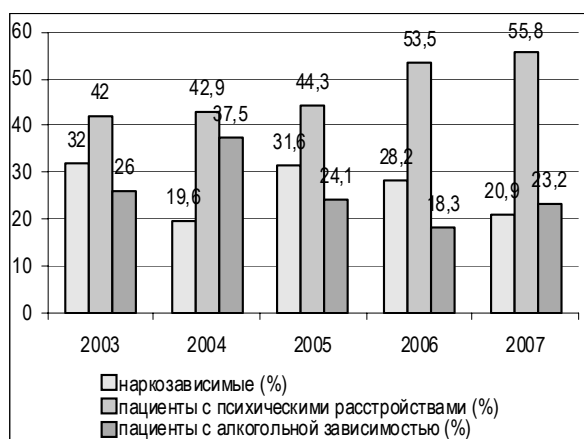


Рис. 2. Доля ВИЧ-инфицированных среди различных групп пациентов, выявляемых ежегодно

Ежедневно в ГПБ № 3 находится 15–20 ВИЧ-инфицированных пациентов. Средняя длительность пребывания каждого составляет 2–3 недели (и более). 2–3 раза в течение года в больницу поступают пациенты с ранее выявленной ВИЧ-инфекцией. В 2007 году и за истекший период 2008 года 3-м пациентам диагностирована стадия СПИДа. Ситуация осложняется возможностью проведения лечебно-диагностических и изоляционных мероприятий таким пациентам. Имеется высокий риск внутрибольничного инфицирования ВИЧ персонала и пациентов в отделениях, связанный с поведенческими особенностями инфицированных больных. Ситуация осложняется тем, что практически в 100% случаев, кроме ВИЧ-инфекции, у контингентов повышенного риска выявляются вирусные гепатиты В, С, а также другие инфекционные заболевания (инфекции, передающиеся половым путём, туберкулёз, шигеллёз).

З а к л ю ч е н и е : Таким образом, требуется дальнейший эпидемиологический анализ сочетания ВИЧ-инфекции и психических расстройств в психиатрических стационарах, а также децентрализация помощи ВИЧ-инфицированным пациентам, её приближение к месту жительства больных.

© С.Н. Комиссаров, 2008
© S.N. Komissarov, 2008

ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ У БОЛЬНЫХ HCV-ИНФЕКЦИЕЙ

С.Н. Комиссаров

Мурманская инфекционная больница, г. Мурманск, Россия

Комиссаров С.Н. Гистохимическая характеристика вирусной активности у больных HCV-инфекцией // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 190–191.

Муниципальное учреждение здравоохранения «Мурманская инфекционная больница», 183027, Мурманск, ул. Полухина 7, телефон 8-8152-25-75-97, e-mail: Larionof@com.mels.ru.

Резюме. Исследовалось соотношение цитопатического и иммунопатологического механизмов повреждения печени на различных стадиях HCV-инфекции. У больных ХГС и циррозом печени проведено гистохимическое исследование вирусной активности путём изучения экспрессии NS3 антигена HCV в гепатобиоптатах. Установлено, что в терминальной стадии при снижении вирусной репликации определяющее значение имеет иммунологически опосредованное повреждение печени, что отчасти объясняет низкую эффективность ПВТ в этой группе пациентов.

Ключевые слова: хронический гепатит С, цирроз печени, вирусная активность, неструктурный антиген.

Komissarov S.N. Histochemical feature to viral activity beside patients with HCV-infection // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 190–191.

Murmanskaya infectious hospital, 183027, Murmansk, str. Poluhina 7, telephone 8-8152-25-75-97, e-mail: Larionof@com.mels.ru.

S u m m a r y . The correlation virologic and immunologic mechanisms damages liver were researched on different stages HCV-infection. Beside patients with chronic hepatitis C and cirrhosis liver is organized histochemical study to viral activity by way of the study to expressions NS3 antigen HCV in hepatic tissue. It is installed that in terminal stage at reduction of the viral activity defining importance has an immunological mediated damage liver that somewhat explains low efficiency therapy in this group patients.

K e y w o r d s : chronic hepatitis C, cirrhosis liver, viral activity, unstructured antigen.

Повреждение печени, связанное с вирусом гепатита С, лежит в основе развития цирроза печени и складывается из прямого цитопатического действия вируса и иммунного цитолиза гепатоцитов Т-лимфоцитами и цитокинами. Соотношение между этими процессами на разных этапах заболевания остаётся неясным и требует дополнительного исследования [1, 2, 3, 4, 5, 6].

Цель исследования. сравнительное изучение вирусной активности у больных ХГС, циррозом печени.

Материал и методы исследования. Обследовано 39 больных хроническим гепатитом С на разных стадиях инфекционного процесса. Среди них 29 человек с ХГС различной степени активности, 10 человек с ХГС в стадии цирроза печени. Средний возраст пациентов с ХГС составил $20,2 \pm 0,6$ лет, больных циррозом печени $49,3 \pm 1,5$ лет.

Больным ХГС проведена пункционная биопсия печени иглой Менгини. У больных циррозом печени образцы печеночной ткани получены с помощью пункционной биопсии печени и секционного исследова-

ния умерших пациентов. В каждом случае определен индекс гистологической активности по Knodell и гистологический индекс фиброза по Desmet. Проведено гистохимическое исследование вирусной активности путём изучения экспрессии NS3 антигена HCV среди больных хроническим гепатитом, пациентов с циррозом печени. Подсчитан процент NS3 HCV позитивных гепатоцитов в ткани печени.

Результаты исследования. При анализе морфологических показателей установлено, что средний индекс гистологической активности у больных хроническим гепатитом С составил $9 \pm 0,7$ баллов, а у пациентов с циррозом печени средний ИГА в 1,5 раза выше и достигал $13,3 \pm 0,7$ баллов ($p < 0,05$ по критерию t Стьюдента). Средний гистологический индекс фиброза у больных ХГС оценён в $3,1 \pm 0,3$ балла, а у пациентов с циррозом печени он в 5,2 раза выше и составил 16 ± 0 баллов ($p < 0,05$ по критерию t Стьюдента).

Охарактеризована вирусная активность с помощью выявления экспрессии NS-3 антигена в ткани печени при различных вариантах HCV-инфекции (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительная характеристика морфологических признаков
и вирусной активности у больных HCV-инфекцией

Стадия болезни	Абс.	ИГА, баллы	ГИС, баллы	Экспрессия протеина NS-3 (в%)
ХГС	29	$9 \pm 0,7$	$3,1 \pm 0,3$	$53,7 \pm 2,8$
Цирроз печени	10	$13,3 \pm 0,7^*$	$16 \pm 0^*$	$38 \pm 7,9^*$

Примечание. * $p < 0,05$ в сравниваемых показателях

Протеин NS-3 экспрессировался в ткани печени больше чем у половины больных ХГС. Средний процент инфицированных гепатоцитов у пациентов с ХГС достигал $53,7 \pm 2,8\%$. Более низкая вирусная активность (в 1,4 раза меньше) определялась у больных циррозом печени, соответственно составив $38 \pm 7,9\%$ ($p < 0,05$ по критерию t Стьюдента). Можно заключить, что при прогрессировании инфекционного процесса процент инфицированных гепатоцитов в ткани печени снижался.

Между вирусной репликацией в ткани печени и степенью воспаления установлена умеренная обратная корреляция ($r = -0,4$; $p < 0,05$). Установлена тенденция к снижению вирусной репликации при увеличении тяжести фиброза ($r = -0,28$; $p > 0,05$). Сравнительная оценка виремии и ИГА установила позитивную корреляцию между этими показателями ($r = 0,6$; $p < 0,05$).

З а к л ю ч е н и е . Таким образом, основной причиной повреждения печёночных клеток на ранних этапах HCV-инфекции может быть цитопатический эффект вируса гепатита С и высокая вирусная нагрузка сочетается с более тяжёлым повреждением печени. При прогрессировании заболевания у больных циррозом печени на фоне повышения гистологической активности тканевая вирусная репликация снижается, что указывает на иммунологически опосредо-

ванный цитолиз гепатоцитов в качестве основной причины гибели клеток печени и отчасти объясняет низкую эффективность интерферонотерапии в этой группе пациентов.

Список литературы

1. Лакина Е.А., Масалова О.В., Абдулмеджидова А.А., Куц А.А. Вирусная нагрузка и тяжесть заболевания гепатита С: есть ли связь? // Вирусные гепатиты. – 2001. – № 3. – С. 11–16.
2. Adinolfi L., Andreana A., Utili R. HCV RNA levels in serum, liver and peripheral blood mononuclear cells of chronic hepatitis C patients and their relationship to liver injury // Am. J. Gastroenterol. – 1998. – Vol. 93, № 11. – P. 2162–2166.
3. Ballardini G., Groff P., Giostra F., et al. Hepatocellular codistribution of c100, c33, c22 and NS5 hepatitis C virus antigens detected by using immunopurified polyclonal spontaneous human antibodies // Hepatology. – 1995. – Vol. 21, No. 3. – P. 730–734.
4. Chang M., Marquardt A., Wood B. In situ distribution of hepatitis C virus replicative-intermediate RNA in hepatic tissue and its correlation with liver disease // J. Virol. – 2000. Vol. 74, No. 2. – P. 944–955.
5. Di Martino V., Saurini F., Samuel D. et al. Long-term longitudinal study of intrahepatic hepatitis C virus replication after liver transplantation // Hepatology. – 1997. – Vol. 26, No. 5. – P. 1343–1350.
6. McGuinness P., Bishop A., Painter D., Chan R., McCaughan G. Intrahepatic hepatitis C RNA levels do not correlate with degree of liver injury in patients with chronic hepatitis C // Hepatology. – 1996. – Vol. 23, No. 4. – P. 676–687.

© Л.Г. Красноплах, С.А. Крутовских, 2008

© L.G. Krasnoplakh, S.A. Krutovskikh, 2008

ПРЕДСТЕРИЛИЗАЦИОННАЯ ОЧИСТКА ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Л.Г. Красноплах, С.А. Крутовских
ООО «Д-р Вайгерт сервис», Москв, Россия

Красноплах Л.Г., Крутовских С.А. Предстерилизационная очистка изделий медицинского назначения с применением высокотехнологических процессов // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 191–192.

Krasnoplakh L.G., Krutovskikh S.A. Presterilizing clearing of products of medical appointment with the use of highly technological processes // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 191–192.

Процесс очистки инструментария медицинского назначения является ответственным этапом процесса обработки: очистки, дезинфекции, стерилизации в ЛПУ. Санитарно-эпидемиологическими требованиями к организации и осуществлению дезинфекционной деятельности СП 3.5.1378–03, утвержденными Главным санитарным врачом РФ 07.06.2003, установлены основные правила проведения предстерилизационной очистки. В этом документе предстерилизационная очистка изделия определена как обязательный этап процесса стерилизации. «Предстерилизационную очистку

проводят ручным или механизированным способом...».

Методические рекомендации по повышению надежности стерилизационных мероприятий в ЛПУ по системе «чистый инструмент», утвержденные Минздравом РФ 31.01.1994 г., предписывают использовать для предстерилизационной очистки моечные машины. Ручная очистка признается рациональной лишь в ограниченной области – только для небольших объемов работы. Предстерилизационная очистка инструментов проводится в ЛПУ как в отделениях, так и в ЦСО. Предстерилизационная очистка изделий руч-

ным способом признана мировой практикой уже давно как весьма трудоемкий и малоэффективный способ. Об этом же свидетельствует и отечественный опыт (ак. С.М. Савенко, проф. И.И. Корнев, Г.И. Рубан и др.).

Детальное знание техники для предстерилизационной очистки изделий медицинского назначения, а также химические и технологические разработки химической фабрики «Доктор Вайгерт», Германия, делают ее одним из ведущих специалистов в области машинной мойки. Препараты группы neodisher, созданные для решения проблем, связанных с предстерилизационной очисткой и дезинфекцией изделий медицинского назначения механизированным способом во всех областях современной медицины, гарантируют высочайший уровень мойки и обеспечивают безупречные результаты при наличии самых разных загрязнений.

Для предстерилизационной очистки механизированным способом хирургических инструментов, инструментов для малоинвазивной хирургии, предметов ухода за больными, контейнеров, детских бутылочек применяются различные программы термической дезинфекции. В термическом процессе дезинфекция достигается за счет высокой температуры и соответствующего временного фактора. Моющий эффект достигается за счет щелочного препарата neodisher FA (Свидетельство о государственной регистрации № 77.99.36.2. У. 11047.10.06 от 18.10.2006г.), а в стадии нейтрализации – neodisher N (Свидетельство о государственной регистрации № 77.99.36.. 2. У. 11046.10.06 от 18.10.06). Контролем качества предстерилизационной очистки изделий медицинского назначения является азопирамовая проба.

В последние десятилетия с появлением сложных высокотехнологических манипуляций, оборудования и инструментария из комбинированного материала, появилась потребность в новых моющих средствах, предназначенных для очистки данного инструментария.

Выбор моющего средства зависит от обрабатываемого материала, состояния инструментария и должен соответствовать требованиям, внесенным в «Гигиенические требования к учреждениям, организациям и лицам, занимающимся дезинфекционной деятельностью», утвержденным 03.10.97г., № 23., то есть они должны обладать: хорошим моющим эффектом, низким пенообразованием, хорошей растворимостью в воде, отсутствием повреждающего действия на очищаемые изделия.

Всем этим требованиям отвечает препарат neodisher MediClean, хорошо зарекомендовавший себя бережной очисткой как инструментария из высоколегированной стали, так и чувствительного, дорогостоящего, что не мало важно, инструмента для микрохирургии и малоинвазивной хирургии, гибких эндоскопов и изделий из латекса.

Совместно с известными компаниями по производству инструментария (K. STORZ, MARTIN, B. BRAUN и т. д.) и компаниями-производителями мочевого оборудования (Miele, Getinge, Belimed и т. д.) проведены тестирования данного препарата и вынесены следующие заключение:

- neodisher MediClean – моющее средство с очень низким воздействием на окружающую среду, имеющее pH в концентрате 8, 5, и нейтральный pH в рабочем растворе, пригоден для обработки чувствительного и хрупкого инструмента, высококачественный результат мойки с низким пенообразованием, в некоторых случаях не требующего стадия ополаскивания кислотным средством.

Чистка инструмента и его дезинфекция на практике не являются синонимами. Надежность проведения каждого из этих процессов является достаточно сложной задачей.

Применение препаратов группы neodisher обеспечит решение любых задач, независимо от уровня сложности.

© В.Н. Покровский, А.Е. Лещинская, В.Ю. Кропачев, 2008

© V.N. Pokrovsky, A.E. Leshchinskaya, V.Yu. Kropachev, 2008

ОПЫТ СОТРУДНИЧЕСТВА УЧЕНЫХ РОССИИ И ГЕРМАНИИ В ОБЛАСТИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ В 2006–2008 ГОДАХ

В.Н. Покровский, А.Е. Лещинская, В.Ю. Кропачев
Научный центр «Дети – Забота Отечества», Россия

Покровский В.Н., Лещинская А.Е., Кропачев В.Ю. Опыт сотрудничества ученых России и Германии в области здравоохранения в 2006–2008 годах // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 192–194.

Pokrovsky V.N., Leshchinskaya A.E., Kropachev V. Yu. Experience of cooperation of Russian and German scientists in the field of public health services in 2006–2008 // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 192–194.

В отношении развития здравоохранения Россия в настоящее время стоит перед выбором. На одном пути требуется подстраиваться под интересы Запада, другой путь предполагает быстрое экономическое развитие, ориентированное на нужды народа, учитывающее возможность оздоровления нации. Выбрав второй путь, Россия может стать моделью для всего мира.

Благодаря своей относительной независимости от интересов мировых корпораций, Россия находится сейчас в удачной ситуации. Экономический рост в течение последнего десятилетия предоставляет российскому правительству возможности для построения уникальной системы здравоохранения, которая позволит снизить уровень заболеваемости такими распространёнными заболеваниями как инфаркт миокарда, инсульт и рак до незначительной доли от современного уровня. Такая цель достижима, если значительно снизить вложения в производство патентованной фармацевтической продукции и переключиться на широкое внедрение научно обоснованных натуральных методов оздоровления.

На последнем заседании Госсовета В.В. Путин отметил: «... Сегодня можно с полным основанием утверждать, что цели, выбранные нами два года назад – правильные, и впредь они должны стать для нас долгосрочными национальными приоритетами, неотъемлемой частью концепции развития России до 2020 г., которую сейчас дорабатывает Правительство».

При реализации национальной программы «Здоровье, образование, демография» Европейская Академия Естественных Наук (Германия, Ганновер) участвует в ряде проектов по протоколу Меркель-Путин. Издаётся журнал «Кох – Мечников» как официальное издание германо-российского форума имени Кохи и Мечникова для совместной борьбы с инфекционными заболеваниями. Организовано сотрудничество немецких и российских учёных в вопросах профилактики лечения особо опасных инфекционных заболеваний: туберкулёз, онкология, СПИД.

В рамках форума проведены две совместные ежегодные научные конференции. Организовано сотрудничество ведущих немецких специалистов (Г. Хан, Р. Эндельбрехт, К. Кинляйн, Т. Ульрикс, Х. Цайххард и др.) в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний. Трёх российским учёным выделены гранты для стажировки в клиниках Германии для подготовки врачей международного уровня путём передачи новейших научных достижений в области диагностики и терапии. Двое германских учёных, профессора Хетцер и Хан, за большой вклад в развитие российско-германских отношений и плодотворное сотрудничество с Центром им. Пирогова избраны первыми иностранными почётными докторами Центра.

Организуются совместные школы медиков по ведущим проблемам здравоохранения. В России эту программу возглавляет руководитель Национального медико-хирургического центра имени Н.И. Пирогова

академик РАМН, почётный президент ЕАЕН Ю.Л. Шевченко.

Работа форума Коха и Мечникова, выпуск соответствующего журнала и другие виды научного и практического сотрудничества учёных и врачей России и Германии является предпосылкой для широкой кооперации учёных и практиков двух стран, для создания единой профессиональной среды общения, объединяющей усилия по наиболее важным и общественно значимым направлениям борьбы с болезнями.

Сотрудничество российских и немецких учёных в совместных мероприятиях позволяет повысить эффект внедрения новейших российских медицинских технологий в поставляемые из Германии высокотехнологичные медицинские комплексы, первый из которых уже внедрён в Пензе. Совместно со специалистами Германии рассматриваются возможности использования их оборудования (концерн Карл Шторц, Туттлинген) для проведения испытаний предлагаемой нами новой технологии малоинвазивной трансцервикальной лазерно-эндоскопической стерилизации на базе российской лазерной техники. После проведения клинических испытаний метод может оказаться эффективной альтернативой существующим методам профилактики незапланированной беременности и в случаях подготовки женщин к экстракорпоральному оплодотворению.

В направлении детензорологии (исследований биомеханики и восстановления опорно-двигательного аппарата) в России с 1988 г. ведёт научную работу профессор Курт Кинляйн, организатор Международного Института Детензорологии. К настоящему времени в РФ прошли обучение методам детензортерапии более 4 тысяч врачей и медсестёр, а метод Детензор применяется в 1500 организаций здравоохранения РФ (включая более 150 санаторно-курортных учреждений), в которых за последние 15 лет получали лечение по методу Детензор более 3 млн российских граждан. Детензор-терапия применяется в Центре подготовки космонавтов им. Гагарина, в Медицинском департаменте УДП РФ, в УПДК военной и спортивной медицине, в педиатрии и др. Метод Детензор, применяемый в медицине 45 стран мира на 4 континентах, включён в российскую отраслевую программу по восстановительной медицине на 2003–2010 гг.

Другое направление научно-практической деятельности направлено на внедрение современных методов профилактики и оздоровления детей и молодёжи в образовательных учреждениях России. В самых передовых школах страны начали разнообразить уроки физкультуры, на которых занимается около 20 тысяч человек, используя современную медицинскую аппаратуру. Глава Росспортпрома В. Фетисов внес законопроект по спортивной подготовке, в котором прописаны все стандарты оборудования спортивных залов, которых сейчас в России насчитывается 20 000, требования к квалификации тренеров и принципы организации спортивной медицины. В про-

шлом 2007 году введено в действие 100 новых спортивных сооружений.

Росспортом была разработана концепция комплексных мер по развитию спорта высших достижений и обеспечению системы подготовки сборных команд по зимним видам спорта к Играм в Сочи. Главными её направлениями стали создание современной конкурентноспособной материально-технической базы для подготовки сборных команд многоуровневой системы муниципальных, региональных, межрегиональных и всероссийских соревнований, а также разработка и внедрение современной высокоэффективной системы научного, методического медицинского, антидопингового и медико-биологического обеспечения подготовительного процесса.

Выступая на церемонии открытия медицинского центра в Пензе, экс-президент России В.В. Путин поставил перед российскими медиками задачу, чтобы в таких центрах внедрялось не менее 50% российской медицинской аппаратуры и медицинских технологий. Многие из такой аппаратуры и технологий было разработано российскими учёными Международного на-

учно-технического центра «Здоровье, Спорт, Бизнес» для системы образовательных учреждений: детских садов, школ, институтов и академий, ещё в 2002 г. и теперь эти и другие новейшие разработки публикуются в настоящем издании сборника «Высокие технологии XXI века» в общей концепции «Пути решения проблем по программе «Дети – забота Отечества»».

Для поддержки программ «Здоровье, образование, демография» президентом ЕАЕН в декабре 2006 г. в г. Москве образован Международный научно-технический центр «Здоровье, спорт, бизнес» с научной программой «Дети – забота Отечества», что особенно важно для создания школьных центров медицины в соответствии с идеей, высказанной. Президентом Российской Федерации Д.А. Медведевым на предвыборном выступлении в Нижнем Новгороде в феврале 2008 г. о том, что здоровье детей сейчас стало высшим государственным приоритетом, для которого государство намерено выделять значительные средства и это касается создания, по существу, заново школьной медицины и распространения на всю страну массовых видов спорта.

© О.И. Шнайбель, А.Г. Кричков, В.Н. Покровский, 2008

© O.I. Shnaybel, A.G. Krichkov, V.N. Pokrovsky, 2008

«ЛИТОФИТОАРОМА КОМПЛЕКС» ДЛЯ ВНУТРЕННЕГО И ВНЕШНЕГО ОМОЛОЖЕНИЯ

О.И. Шнайбель, А.Г. Кричков, В.Н. Покровский

Международный центр ревитализации и омоложения «Ла Лик», Россия – Франция, Академия Авторов Научных Открытий и Изобретений

Шнайбель О.И., Кричков А.Г., Покровский В.Н. «Литофитоарома комплекс» для внутреннего и внешнего омоложения // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 194–195.

Shnaybel O.I., Krichkov A.G., Pokrovsky V.N. «Lithophytoaroma complex» for internal and external rejuvenation // Herald Mechanikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 194–195.

В период февраля – октября 2007 года на базе Международного центра ревитализации и омоложения «Ла Лик» и Европейского Института по вопросам старения (Франция) были проведены исследования по воздействию препаратов: «Изумрудная роса», «Сияние жизни», «Аромат рубина» на группу добровольцев в количестве 112 человек (40 мужчин, в возрасте 30–58 лет и 72 женщины 30–63 лет).

«Изумрудная роса» – это комплексный 100% натуральный препарат, восстанавливает и поддерживает функцию селезенки и надпочечников, способствует расщеплению жиров и крахмалов, восполняет дефицит селена. Синергист: изумруд.

«Сияние жизни» – 100% натуральный препарат, замедляет процесс старения, способствует долголетию, нормализует работу гипофиза и эпифиза, благо-

творно влияет на гормональный статус. Синергист: изумруд, рубин, бирюза.

«Аромат рубина» – 100% натуральный препарат, ярко выраженные кровоочистительные свойства, стимулятор пищеварения. Синергист: рубин.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и й : скринингом крови в динамике изучить действие препаратов на кровь добровольцев, взяв за базовый анализ крови человека до принятия препарата.

Для исследований применялся темнопольный микроскоп «Олимпус», забор крови и мониторинг вели квалифицированные врачи второго Мединститута кафедры восстановительной медицины.

В х о д е и с с л е д о в а н и й были получены следующие результаты:

В группе мужчин в количестве 40 человек, явное действие препарата было отмечено у 38 человек, в

двух случаях состояние крови было индифферентным.

Базовая кровь: в 95% случаев – избыточное количество эритроцитов, что говорит о поражении эритроцитов из-за токсинов в крови, пойкилоцитоз (эритроциты неправильной формы из-за повреждения свободными радикалами). У 14 человек обнаружено большое количество палочковидных бактерий в плазме крови, продуцирующих токсины. В каждом втором случае – повышенное содержание кристаллов холестерина..

После применения препаратов, через 10 минут, повторный забор крови показал следующие результаты:

Происходит увеличение активности эритроцитов и лейкоцитов, эритроциты принимают правильную форму, происходит разжижение крови, происходит растворение кристаллов холестерина. У 8 человек из 14 с палочковидными бактериями отмечено уменьшение количества и активности бактерий в плазме крови.

В группе женщин в количестве 72 человек, ответная реакция крови присутствовала у всех добровольцев.

Базовая кровь: в 97% случаев – агрегация эритроцитов и тромбоцитов из-за избыточного содержания жиров и белков в крови, большое количество спикул фибриногена, что характерно для недостаточной циркуляции крови и увеличенной нагрузки на печень. Избыточное количество кристаллов холестерина, эритроцитов и пойкилоцитоз.

После применения препаратов, через 10 минут, повторный забор крови показал следующие результаты: увеличивается активность эритроцитов и лейкоцитов, эритроциты принимают правильную форму, происходит процесс растворения спикул фибриногена, растворение кристаллов холестерина и расклеивание тромбоцитов.

В ходе наблюдений было выявлено следующее: препараты не оказывают заметного воздействия на кристаллы мочевой кислоты, кристаллы сахара, гриб-

ковую инфекцию и палочковидные бактерии. Результат действия на палочковидные бактерии выражается только в виде уменьшения количества бактерий в плазме крови и уменьшения их активности.

На основе проведенных исследований, мы можем констатировать, что пероральное применение препаратов: «Изумрудная роса», «Сияние жизни», «Аромат рубина», дает следующие результаты – нивелируется в сторону разжижения сланжированная кровь, происходит явное усиление ферментативной активности печени, результатом которого является расклеивание тромбоцитов и растворение кристаллов холестерина. Явно выражена антиоксидантная активность и воздействие на иммунную систему человека, которое выражается в увеличении активности лимфоцитов и эритроцитов и восстановлении ими правильной формы, присущей физиологически здоровому организму.

Об улучшении состояния добровольцев можно было дополнительно судить по визуальному осмотру и устному опросу.

По характеру воздействия и изменению крови, мы можем предполагать о целенаправленном и комплексном воздействии на иммунную систему человека и при длительном курсе это позволит увеличить количество Т-лимфоцитов и поддерживать их количество на должном уровне, что позволит использовать препараты в следующих направлениях:

- омолаживающие и продлевающие жизнь человека;
- состояния иммунодефицита;
- тяжелые вирусные инфекции.

Большим плюсом, с нашей точки зрения, является – высокий терапевтический индекс, быстрое поступление в физиологические жидкости организма и отсутствие рисков, связанных с инъекционным вмешательством.

На сегодняшний день, впервые в мире, в России налажено производство опытных партий препаратов.

© М.Ю. Шпак, А.Е. Лещинская, С.Г. Юзбашян, 2008

© M. Yu. Shpak, A.E. Leshchinskaya, S.G. Yuzbashyan, 2008

МНОГОЧАСТОТНЫЙ СИНТЕЗАТОР «МЧС» КАК МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СРЕДСТВО БОРЬБЫ С ПАРАЗИТАМИ

М.Ю. Шпак, А.Е. Лещинская, С.Г. Юзбашян

Врачебно-физкультурный диспансер № 11, г. Москва

Потребительское общество социально – инвестиционного взаимодействия «ПромИнвестРесурс»

Шпак М.Ю., Лещинская А.Е., Юзбашян С.Г. Многочастотный синтезатор «МЧС» как многофункциональное средство борьбы с паразитами // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 195–197.

Shpak M. Yu., Leshchinskaya A.E., Yuzbashyan S.G. Multifrequent synthesizer «MCHS» as a multipurpose means for the struggle with parasites // Herald Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 3 (28). – P. 195–197.

Сегодня, в 21-м веке, когда технологии находятся на грани фантастики, мы теряем один миллион населения только в России. По данным Всемирной Организации Здравоохранения, 14-п миллионов смертей в год в мире происходит по паразитарной причине, что составляет 25% от общемирового показателя, *то есть КАЖДАЯ ЧЕТВЕРТАЯ СМЕРТЬ*.

Человек может являться «хозяином» более 2000 видов паразитов, от мельчайших микроорганизмов до метровых глистов. Паразиты живут не только в прямой кишке, их можно обнаружить практически в любой части тела: легких, печени, мышцах, суставах, желудке, пищеводе, мозге, крови, коже и даже в глазах.

По данным частотно-резонансной диагностики, паразитами заражено 97% населения. Особенно высокая степень заражения аскаридами, описторхами, острицами и другими видами червей. Грибковыми инфекциями заражено более 25% населения.

По данным из разных регионов России, 70% обследованных пациентов заражены токсоплазмами – мельчайшими паразитами, обитающими в головном мозге, разрушающими его клетки, а также живущими во внутренних органах, мышцах и лимфоузлах. Заражение происходит от кошек, собак, птиц, а также через воду и продукты питания.

Существует совсем немного медицинских методов очистки организма от паразитов.

Разработан новый мощный антипаразитарный прибор биорезонансной терапии, многочастотный синтезатор «МЧС». Прибор изготавливается в МИЭТ г. Зеленограда.

Многочастотный Синтезатор «МЧС» сертифицирован в системе ГОСТ РФ. Сертификат соответствия № РОСС RU. АJ546. Н47995, а также соответствует нормативам СЭС, заключение № 77.01.16.650. П. 3212.01.07. от 26.01.2007г.

Прибор «МЧС» с комплектом приставок обладает рядом несомненных преимуществ по сравнению с другими аналогами:

1. Помогает населению быть готовым к изменению эпидемиологической обстановке.
2. Включает защитные силы организма.
3. Усиливает иммунную систему.
4. Восстанавливает гомеостаз.
5. Повышает эффективность применяемой традиционной, классической и интегральной медицины.
6. Блокирует причинно-следственные связи в развитии заболеваний.

Хочется обратить внимание на то, что использование прибора позволяет не нарушать дружественную флору ЖКТ:

1. Сохранять «тонкие» биополевые структуры человека.
2. Очищать меридианную энергетическую структуру человека.

3. Защищать от негативных влияний окружающей среды.

4. Ликвидировать отрицательные информационные наслоения в виде наследственных болезней.

Актуальность обусловлена следующим:

– не секрет, что **бронхиальная астма** часто имеет паразитарную природу: причиной заболевания является печеночный паразит – сосальщик, яйца аскарид, гельминт токсопара и пылевой клещ;

– не секрет, что **сахарный диабет** в ряде случаев имеет паразитарные корни (трематода крупного рогатого скота, хеликобактер).

– а **экзема и псориаз** – болезни, связанные с недостатком кремния, который поглощают паразиты, поселившиеся в организме человека.

– пусковым механизмом развития **воспалительных заболеваний суставов** часто являются паразиты: простейшие (трихоманада), бактерии (хламидии) и т. д.

Простейшие одноклеточные паразиты, вирусы поражают **организм ребенка** еще в утробе матери и для борьбы с ними нельзя применить ни антибиотики, ни облучение, ни операции (токсоплазма, цитомегаловирус и другие виды паразитов).

Казалось бы, складывается безвыходная ситуация – мы вынуждены смириться с этим «непрощеным соседством», которое весомо снижает качество жизни современного человека.

Как же быть? Что делать? Один из эффективных методов является прибор «МЧС».

Уникальность прибора состоит в том, что он:

– *во-первых*, генерирует более 150 видов частот, соответствующих шкале, описанной в трудах Хильды Кларк, способных уничтожить паразитарную флору методом биорезонанса, и это доказывают исследования, проводившиеся в течение 20 лет.

– *во-вторых*, прибор позволяет организму самому избавиться от паразитов естественным путем.

Наш прибор имеет четыре режима работы:

РЕЖИМ № 1 – уничтожает гельминты, простейшие, а также их яйца и личинки (спектр частот от 400 до 500 кГц).

РЕЖИМ № 2 – уничтожает вирусы и бактерии (спектр частот от 300 до 400 кГц).

РЕЖИМ № 3 – уничтожает клещей, грибки, плесень (спектр частот от 188 до 898 кГц).

РЕЖИМ № 4 – разрушает токсические соединения (спектр частот от 99 до 200 кГц). Данный режим позволяет организму избавиться от паразитов естественным путем.

Многофункциональность прибора обеспечивается наличием различных электродов, приставок, что позволяет структурировать воду, наносить на неё информацию целебных свойств лекарственных трав и препаратов, обеспечивать профилактический массаж внутренних органов методом Су-Джок.

Режим детоксикации выполняет также антидотную функцию, блокирует негативные последствия от гибели инфекции и не дает возможности усилиться одному виду инфекции за счет гибели другой, в том числе, неизвестных, пока, науке.

Прибор безопасен, компактен, экономичен и долговечен, имеет хороший дизайн.

Прибор становится незаменимым помощником в деле сохранения и поддержания здоровья.

Суть метода состоит в том, **что** прямоугольный положительный **импульс**, подаваемый в течение семи минут с напряжением в девять вольт, разрушает те виды бактерий, вирусов, паразитов, уникальная частота которых соответствует частоте каждого из этих видов паразитов. **В результате биорезонанса** происходит гибель паразита, как в человеческом организме, так и в животном! Это открытие века сдела-

но всемирно известным ученым клиницистом Хильдой Кларк.

Таким образом, когда каждая четвертая смерть в мире связана с паразитами, прибор «МЧС» – **становится** уникальным средством, как **индивидуальной** защиты, так **и** общественной (для всех членов семьи, а также для групп людей).

Паразитами в первую очередь поражаются дети, поэтому считаем актуальным применение прибора для очищения организма и профилактики заболеваний всей семьи.

Медикаментозная терапия дает много побочных эффектов, поэтому предлагаем целесообразным включить в программу «Дети – забота Отечества» многочастотный синтезатор МЧС, тем более, что 2008 год объявлен годом семи.

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ

В журнале «Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова» публикуются научные обзоры, статьи проблемного и научно-практического характера, отражающие достижения в медицинской науке и, прежде всего, – в разделе профилактической медицины. Журнал «Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова» входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых, должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук, что значительно повышает требования к содержанию и оформлению научных статей.

При написании и оформлении статей для печати редакция журнала просит придерживаться следующих правил.

1. В структуру статьи должны входить: введение (краткое), цель исследования, материал и методы исследования, результаты исследования и их обсуждение, выводы или заключение, список литературы. Изложение материала должно быть ясным, сжатым, без длинных введений, повторений и дублирования в тексте данных таблиц и рисунков. При обработке материала используется международная система единиц (СИ). В написании числовых значений десятичные доли отделяются от целого числа запятой, а не точкой. Текст статьи должен быть тщательно выверен: цитаты, формулы, таблицы, дозы визируются автором на полях. Специальные термины даются в русской транскрипции. Сокращенное написание слов, названий допускается только при указании полного их написания при первом упоминании.

2. В формулах следует четко разметить все элементы: латинские буквы выделить синим цветом, греческие – красным, русские – зеленым. Необходимо выделить надстрочные и подстрочные индексы, заглавные и строчные буквы, а также сходные по написанию буквы и цифры.

3. Таблицы должны содержать только необходимые данные и представлять собой обобщенные и статистически обработанные материалы. Каждая таблица снабжается заголовком, вертикальные и горизонтальные линии проводятся, но вертикальные боковые, горизонтальные в основной части таблицы и нижняя линии делаются невидимыми. В таблице ничего не выделять полужирным шрифтом или прописными буквами. Каждая таблица вставляется в текст после абзаца с первой ссылкой на нее.

4. Количество графического материала должно быть минимальным (не более 5 рисунков). Рисунки должны быть оригинальными (не сканированными). Данные рисунков не должны повторять материалы таблиц. Рисунки не должны быть перегружены надписями и обозначениями. Каждый рисунок должен иметь подпись (сразу под рисунком), в которой дается объяснение всех его элементов (кривых, буквенных,

цифровых и других условных обозначений). В подписях к микрофотографиям указываются увеличение объектива и окуляра, метод окраски или импрегнации. Для построения графиков и диаграмм использовать программу Microsoft Office Excel. Каждый рисунок вставляется в текст как объект Microsoft Office Excel после ссылки на него.

5. Библиографические ссылки в тексте статьи следует давать в квадратных скобках в соответствии с нумерацией в списке литературы. Список литературы для оригинальной статьи – не более 5–10 источников, помещается после заключения или выводов. Список литературы составляется в алфавитном порядке – сначала отечественные, затем зарубежные авторы и оформляется в соответствии с ГОСТ 7.1–2003: указываются фамилии, инициалы авторов, название работы (статьи), наименование издания, место издания, издательство, год издания, номер тома и выпуска, страницы (от и до). Фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции. Следует также придерживаться правил пунктуации. Ссылки на неопубликованные работы и диссертации не допускаются. При несоответствии оформления списка литературы ГОСТ статья не печатается.

6. Объем статьи не должен превышать 8 страниц А4 формата (1 страница не более 2000 знаков), включая таблицы, схемы, рисунки и список литературы. Страницы должны быть пронумерованы в верхнем правом углу. Редакция оставляет за собой право на сокращение и редактирование статей.

7. Статья должна содержать: резюме и ключевые слова, summary и key words, включая название статьи, фамилий и инициалов авторов на русском и английском языках, объемом не более 400 знаков; полные сведения на русском и английском языках об учреждениях, в которых выполнялась работа и авторах статьи. Сведения об учреждениях должны включать: названия (с указанием ведомственной принадлежности), адреса с почтовыми индексами, номеров телефонов и факсов с кодами городов, адреса электронной почты. Сведения об авторах статьи (Information about the author (s) – фамилия, имя, отчество полностью с указанием ученой степени, ученого звания, должности (для учащихся – аспирант, соискатель или студент), контактные № телефонов, № доступного факса, адрес электронной почты.

8. Вид статьи. Вначале 1-й страницы справа вставляется символ: © и перечисляются инициалы и фамилии авторов статьи на русском и английском языке, на следующей строке слева пишется УДК, по центру указываются: название статьи (прописными буквами, полужирным шрифтом) без сокращений; с новой строки инициалы (прописными буквами, полужирным шрифтом) и фамилии авторов (первая буква прописная, остальные строчными буквами, полужирным шрифтом); с новой строки полное название учреждения, город, страна (курсивом, обычным). Пропустить 1 строку. С новой строки помещаются: фамилии и

инициалы всех авторов (курсивом, обычным), название статьи ... // название журнала: Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. Далее с новой строки приводятся полные сведения об учреждениях, Резюме и Ключевые слова, затем и полные сведения об авторах. С новой строки на английском языке фамилии и инициалы всех авторов, название статьи ... и через // название журнала: Vestnik Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. С новой строки на английском языке полные сведения об учреждениях, Summary и key words, затем полные сведения об авторах. При представлении статьи авторов, работающих в разных учреждениях, рядом с фамилией каждого автора в заголовке статьи, резюме и summary ставится надстрочная цифра, соответствующая цифре, поставленной также надстрочно впереди наименования учреждения, в котором работает автор (см. пример).

9. Статья и резюме на русском и английском (summary) языках должны быть набраны на компьютере в программе Microsoft Office Word в одном файле. Рисунок шрифта – Times New Roman, размер шрифта – кегль 14, абзацный отступ стандартный – 1,25 и делается табуляцией, а не пробелами, интервалы перед и после абзацев не ставятся, интервал между строками – полуторный, между словами делается 1 пробел, количество строк на странице – не более 30, поля – по 2 см с каждой стороны). Для структурных подзаголовков (цель исследования, материал и методы исследования, результаты исследования и их обсуждение, выводы или заключение, список литературы, резюме, ключевые слова, summary и key words, сведения об авторах и Information about the author (s) используется разреженный интервал шрифта – 4 пт.

10. Файл должен быть сохранен в формате редактора Word или RTF на лазерном диске по фамилии (без инициалов) первого автора на русском языке. Во избежание не раскрытия файла рекомендуется на диске сделать папку «Копия» и сохранить файл повторно. Диск и файл подписывается фамилией первого автора.

11. Статья должна быть подписана всеми авторами рядом со сведениями о них, иметь на первой странице визу научного руководителя «в печать» с указанием ученой степени и звания, должности и расшифровкой подписи, заверенную гербовой печатью учреждения.

12. Статья должна сопровождаться официальным направлением учреждения, в котором выполнена данная работа, экспертным заключением, рецензией с заверенной подписью рецензента, а также регистрационной картой публикации, оформленной в А5 формате по прилагаемому образцу. На направлении и экспертном заключении должны быть регистрационные номера, даты и гербовые печати учреждения. В регистрационной карте следует указать фамилию, имя и отчество одного из авторов и телефон рабочих, домашний и мобильный (для иногородних с кодом) для контакта, точный почтовый адрес с индексом (для иногородних). При отсутствии этих сведений статья, требующая авторской редакции, не будет опубликована.

В редакцию направляются 1 экземпляр рукописи на бумажном (распечатка текста на одной стороне листа формата А4) и электронном носителе (компакт-диск), сопроводительное письмо, рецензия, экспертное заключение, регистрационная карта публикации, вложенные в прозрачную папку-файл (закрытую с 3-х сторон). При направлении в редакцию нескольких статей каждую необходимо вложить в отдельную папку-файл с диском и сопроводительными документами для соответствующей статьи. При несоблюдении данного правила напечатана будет только первая статья, так как диск из издательства не возвращается. Рекомендация учреждения, в котором выполнялась данная работа, Фамилии и инициалы всех авторов, полное название рукописи, направляемой в редакцию, указание для какой рубрики предназначена работа, является ли работа диссертационным исследованием (докторским, кандидатским). Заверение редакции в том, что материалы, представленные в данной статье, не были опубликованы в другом печатном издании. Дата отправления рукописи

Рукописи статей с сопроводительными документами (направление, экспертное заключение, регистрационная карта публикации) и рецензией принимаются в научной части ректората – пав. 35, лично от авторов в период с 1 сентября по 30 июня по вторникам с 15 до 17 (справки по тел.: **(812) 543-59-18** в то же время) или направляются почтой. Иногородним авторам рукописи статей следует направлять заказным письмом с описью и уведомлением о вручении по адресу: 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47, Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И. И. Мечникова, павильон 35, общий отдел, на имя Главного редактора журнала Академика РАМН А.В. Шаброва. Для направления исправленных авторами статей после получения замечаний рецензента или редактора адрес электронной почты: maimulov@gmail. com, mechnik@gmail. com, факс: (812) 740-15-24. **Рукописи статей, оформленные не по правилам и отправленные только по электронной почте или факсу, не рассматриваются.** Присланные рукописи обратно не возвращаются. Не допускается направление в редакцию работ, которые посланы в другие издания или напечатаны в них.

Рукописи статей, поступившие в редакцию до 1 октября, могут быть опубликованы в № 1 следующего года, до 1 января – в № 2, до 1 апреля – в № 3, до 1 июля – в № 4 текущего года. С 1 июля по 31 августа прием статей лично от авторов не проводится.

В одном номере журнала может быть напечатана только одна статья автора.

Журнал издается на средства авторов и подписчиков.

Рассылка изданий производится по индивидуальным заявкам (см. регистрационную карту публикации), гарантирующим оплату почтового отправления и при наличии пластикового пакета почтового размера не менее 229х324 с адресом получателя.

Подписной индекс журнала по России: 15413 (в Российском каталоге подписных изданий).

Пример оформления статьи

УДК613.6: 677

© В.М. Шмелева, В.А. Кобилянская,
Н.В. Аганезова, Л.П. Папаян, 2008
© V.M. Shmeleva, V.A. Kobilyanskaya,
N.V. Aganezova, L.P. Papayan, 2008

ВЛИЯНИЕ ГОМОЦИСТЕИНА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПЛАЗМЫ К АКТИВИРОВАННОМУ ПРОТЕИНУ С

В.М. Шмелева¹, В.А. Кобилянская¹, Н.В. Аганезова², Л.П. Папаян¹

¹Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования

Шмелева В.М.¹, Кобилянская В.А.¹, Аганезова Н.В.², Папаян Л.П.¹ Влияние гомоцистеина на чувствительность плазмы к активированному протеину С // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 1 (26). – С.

¹Федеральное государственное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи» (ФГУ РНИИ ГТ Росздрава), 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16, телефон: 8-812-274-56-50, факс: 8-812-717-25-50, 8-812-274-92-27, E-mail: RNIINT@mail.ru или bloodscience@mail.ru

²Государственное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (ГОУ ДПО СПб МАПО Росздрава), 191015, Кирочная ул., д. 41, тел.: 272-52-06, факс: 273-00-39, Эл. адрес: admin@maps.spb.ru

Р е з ю м е : Уровень гомоцистеина плазмы и индекс резистентности к активированному протеину С определены у 28 женщин с предменструальным синдромом и в контрольной группе из 30 женщин. Выявлено снижение чувствительности плазмы к активированному протеину С при повышении уровня гомоцистеина.

К л ю ч е в ы е с л о в а : гомоцистеин, чувствительность плазмы, активированный протеин С.

Shmeleva V.M.¹, Kobilyanskaya V.A.¹, Aganezova N.V.², Papayan L.P.¹ Influence of haemocystein on plasma sensitivity to the activated C protein // Vestnik Mechnikov Saint-Petersburg State Medical Academy. – 2008. – № 1 (26). – P.

¹Federal State Institution «Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Agency for Advanced Technology Medical Aid», 191024, St.-Petersburg, 2 Sovetskaya str., 16, tel.: 8-812-274-56-50, fax: 8-812-717-25-50, 8-812-274-92-27, E-mail: RNIINT@mail.ru или bloodscience@mail.ru

²State Educational Establishment for Additional Professional Training «Saint-Petersburg Medical Academy for Post-Diploma Training of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation», 191015, Kirochnaya str., 41, tel.: 272-52-06, fax: 273-00-39, e-mail: admin@maps.spb.ru

S u m m a r y : Homocysteine levels and APC resistance were studied in 28 patients with premenstrual syndrome and 30 controls. Our data indicate that increased homocysteine levels are associated with reduced anticoagulant response to activated protein C, which may contribute to prothrombotic effect of hyperhomocysteinemia.

С в е д е н и я о б а в т о р е (а х) :

Сухарев Александр Евгеньевич – доктор медицинских наук, директор Астраханского регионального общественного учреждения гуманитарных проблем «ГРАНТ. ад», телефон раб.: (8-3912) 22-16-32 дом.: (8-3912) 23-88-15, e-mail: asukharev@mail.com подпись

Афанасьева Галина Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии Саратовского ГМУ, телефон раб.: (8-845-2) 66-97-91, дом.: (8-845-2) 51-15-87, моб.: 8-903-384-00-97, e-mail: gafanaseva@yandex.ru подпись

Information about the author (s):

Sukharev Alexander Evgenievich – doctor of medicine, head of the Astrakhan Scientific Regional Public Institution of Humanitarian Problems «GRANT», work tel.: (8-3912) 22-16-32, home tel.: (8-3912) 23-88-15, e-mail: asukharev@mail.com

Afanasyeva Galina Alexandrovna – candidate of medical sciences, assistant-professor of the Department of Pathologic Physiology of Saratov State Medical University, work tel.: (8-845-2) 66-97-91, home tel.: (8-845-2) 51-15-87, mobile phone 8-903-384-00-97, e-mail: gafanaseva@yandex.ru

Текст статьи с абзаца, включающий: введение (слово Введение – не писать), далее с новых строк:

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я . Текст

М а т е р и а л и м е т о д ы и с с л е д о в а н и я . Текст

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я и и х о б с у ж д е н и е . Текст

З а к л ю ч е н и е . Текст или В ы в о д ы (по центру) 1., 2., 3. и т. д. (с абзаца.),

С п и с о к л и т е р а т у р ы (по центру).

Формы сопроводительных документов

РЕЦЕНЗИЯ

на статью (Фамилии, инициалы авторов, полное название статьи)

Проблема (раздел журнала) Общественное здоровье и здравоохранение, Охрана материнства и детства, Питание и здоровье населения, Гигиена окружающей и производственной среды, Эпидемиология, микробиология, инфекционные и паразитарные заболевания, Социально значимые болезни и состояния, Восстановительная медицина, Медицинская психология, Подготовка кадров.

Класс статьи: 1) Оригинальное научное исследование, Новые технологии, методы диагностики, лечения, профилактики, Фундаментальные исследования, Клинические и экспериментальные исследования Научный обзор, Дискуссия, История медицины, Обмен опытом, Наблюдения из практики, Практические рекомендации, Рецензия, Лекция Краткое сообщения, Юбилей, Информационные сообщения, решения съездов, конференций, пленумов.

Научная новизна: 1) Постановка новой проблемы, обоснование оригинальной теории, концепции, доказательства, закономерности 2) Фактическое подтверждение собственной концепции, теории 3) Подтверждение новой оригинальной заимствованной концепции 4) Решение частной научной задачи 5) Констатация известных фактов

Оценка достоверности представленных результатов

Практическая значимость. Предложены: 1) Новые методы диагностики, лечения, профилактики 2) Новая классификация, алгоритм 3) Новые лекарственные препараты, результаты их апробации 4) Даны частные или слишком общие, неконкретные рекомендации 5) Практических целей не ставится

Формальная характеристика статьи

Стиль изложения – хороший, (не) требует правки, сокращения.

Таблицы – (не) информативны, избыточны.

Рисунки – приемлемы, перегружены информацией, (не) повторяют содержание таблиц.

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Статья актуальна, обладает научной и практической новизной, рекомендуется для печати.

Рецензент Фамилия, инициалы

Полные сведения о рецензенте: Фамилия, имя, отчество полностью, ученая степень и звание, должность, сведения об учреждении (название с указанием ведомственной принадлежности), адрес, с почтовым индексом, номер, телефона и факса с кодом города)

Дата

Подпись

Подлинность подписи рецензента подтверждаю: Секретарь

Печать учреждения

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор (Зам. директора по науке),

Ректор (Проректор по НИР)

(руководитель организации)

(подпись и печать учреждения)

«_____» _____ 20__ г.

ЭКСПЕРТНОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ О ВОЗМОЖНОСТИ ОПУБЛИКОВАНИЯ

Экспертная комиссия (руководитель эксперт) _____
(организация с указанием ведомственной принадлежности)

рассмотрев статью _____
(Ф.И. О. автора, вид, название материала)

Подтверждает, что в материале: _____
(содержаться ли сведения, запрещенные к опубликованию в открытой печати)

На публикацию материала _____
(следует получить или не следует получить разрешение)

(министерства, ведомства или другой организации)

Заключение. Комиссия считает возможным публикацию статьи в открытой печати.

Председатель комиссии (руководитель – эксперт):

Профессор _____ (расшифровка подписи)

Члены комиссии:

Патентовед _____ (расшифровка подписи)

Начальник спец. отдела (части) _____ (расшифровка подписи)

(на бланке учреждения)

НАПРАВЛЕНИЕ

_____ № _____
(дата) исходящий номер)

Главному редактору журнала
«Вестник Санкт-Петербургской
государственной медицинской академии
им. И.И. Мечникова»
Академику РАМН А.В. Шаброву

Направляем рукопись статьи автора (ов) _____
на тему _____,
рекомендованную Проблемной комиссией « _____ »

(Протокол № от) для опубликования в журнале, в рубрике

Работа является диссертационным (кандидатским, докторским) исследованием. Представленные в рукописи статьи материалы не были опубликованы в другом печатном издании.

Контактная информация автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией:

Фамилия, имя, отчество

Ученая степень, звание

Должность

Название учреждения

Почтовый индекс, адрес

Код города, телефон/факс

Адрес электронной почты.

Подпись проректора по НИР, руководителя (заместителя) учреждения (расшифровка подписи)

Гербовые печати учреждения

РЕГИСТРАЦИОННАЯ КАРТА ПУБЛИКАЦИИ* № _____

Дата поступления _____

Фамилия, инициалы всех авторов статьи	Название статьи полное

В статье количество				Направлена на		Выходные данные		
страниц текста	таблиц	рисунков	источников литературы	рецензию	редактирование	год	№	стр.

Предполагаемый срок защиты диссертации: докторской _____ кандидатской _____

Опись вложения	Отметка о наличии (+)	ЗАЯВЛЕНИЕ (для иногородних) Прошу выслать журнал с опубликованной статьей наложенным платежом по адресу:		Контактная информация автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией	
Направление		Индекс		Код города	
Экспертное заключение		Город		Тел. рабочий	
Рукопись статьи, включающая – Резюме – Summary		Проспект (улица)		Тел. домашний	
		№ дома		Тел. мобильный	
		№ корпуса		Контактное лицо:	
Рецензия на статью		№ квартиры		Имя	
Регистрационная карта		Конверт с адресом получателя прилагается		Отчество	
Лазерный диск		Дата		Факс	
Файл-карман		Подпись		E-mail	

* Регистрационная карта заполняется вручную или печатается в Формате А5, книжная ориентация (форму не менять, по контуру не вырезать!)

** Размер пластикового пакета почтового не менее 229х324 мм.