

МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№3

ТОМ 8

2008

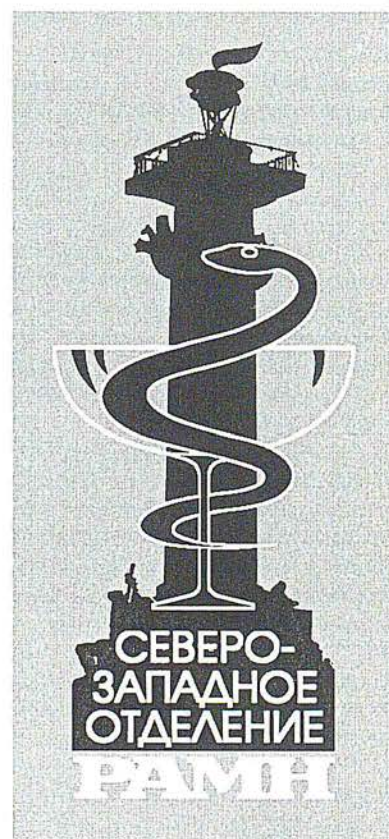
ОФИЦИАЛЬНОЕ ИЗДАНИЕ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Ткаченко Б. И. — академик РАМН, главный редактор,
 Дуданов И. П. — член-корреспондент РАМН, заместитель главного редактора,
 Назориев В. А. — академик РАМН, заместитель главного редактора,
 Шабанов П. Д. — профессор, ответственный секретарь,
 Айламазян Э. К. — академик РАМН,
 Ерюхин И. А. — член-корреспондент РАМН,
 Игнатов Ю. Д. — академик РАМН,
 Кетлинский С. А. — член-корреспондент РАМН,
 Лобзин Ю. В. — академик РАМН,
 Мазуров В. И. — член-корреспондент РАМН,
 Майстренко Н. А. — член-корреспондент РАМН,
 Одинак М. М. — член-корреспондент РАМН,
 Селиванов Е. А. — член-корреспондент РАМН,
 Семглазов В. Ф. — член-корреспондент РАМН,
 Тотолян А. А. — академик РАМН,
 Щербо А. П. — член-корреспондент РАМН.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Артамонова В. Г. — академик РАМН,
 Беляков Н. А. — академик РАМН,
 Гайдар Б. В. — академик РАМН,
 Гриненко А. Я. — академик РАМН,
 Жебрун А. Б. — член-корреспондент РАМН,
 Киселев О. И. — академик РАМН,
 Корнева Е. А. — академик РАМН,
 Корнилов Н. В. — член-корреспондент РАМН,
 Климов А. Н. — академик РАМН,
 Медик В. А. — член-корреспондент РАМН,
 Симбирцев С. А. — член-корреспондент РАМН,
 Сидоров П. И. — академик РАМН,
 Софронов Г. А. — академик РАМН,
 Шабров А. В. — академик РАМН,
 Шляхто Е. В. — член-корреспондент РАМН,
 Хавинсон В. Х. — член-корреспондент РАМН,
 Яицкий Н. А. — академик РАМН,
 Vorland R. — профессор (Австралия),
 Ferreti J. — профессор (США).



Журнал издается при финансовой поддержке ОАО «Кондопога»

Журнал включен в Реферативный журнал и Базы данных ВИНТИ РАН.
 Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory»

Адрес: 197022, Санкт-Петербург, Каменноостровский пр., 69/71, Северо-Западное отделение Российской академии медицинских наук, Редакция журнала «Медицинский академический журнал».
 Тел.: (812) 542-4397; Факс: (812)234-9487; E-mail: shabanov@mail.rcom.ru

Журнал зарегистрирован Территориальным управлением по Санкт-Петербургу и Ленинградской области Министерства РФ по делам печати, телевидения и средств массовых коммуникаций.
 Свидетельство о регистрации ПИ № 2-4952 от 17.01.2001 г.

© Северо-Западное отделение Российской академии медицинских наук

СОДЕРЖАНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕДОВАЯ	
Селиванов Е. А., Дуткевич И. Г. Трансфузиология на современном этапе	4
ОБЗОРЫ	
Киселева И. В., Ларионова Н. В., Григорьева Е. П., Руденко Л. Г. Генетические основы аттенуации холодоадаптированных вирусов гриппа	15
ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА	
Смородинцева Е. А., Столярков К. А., Маринич И. Г., Киселев О. И. Влияние современных эпидемий гриппа на смертность населения от пневмонии	28
Данилова И. А., Мерабишвили В. М., Аничков Н. М., Чепик О. Ф. Анализ современного патоморфоза рака желудка на популяционном уровне	35
Кузнецов О. К., Корнеева Э. П., Степанова Л. А., Исполатова А. В., Коротков А. В., Гашинская О. В., Репко И. А., Банников А. И., Зайцев Ф. Н. Доклиническое изучение специфической активности мукозальных инактивированных гриппозных и аденовирусных вакцин с адьювантом	46
КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА	
Гранов А. М., Якубович Е. И., Лавникович Д. М., Евтушенко В. И. Гендерные различия в метилировании 5'-фланкирующей области гена <i>DUSP9</i> у больных со светлоклеточной карциномой почки	55
Скоромец А. А., Амелин А. В., Тарасова С. В., Игнатов Ю. Д. Эффективность и безопасность антидепрессантов и антиконвульсантов при лечении хронической ежедневной головной боли	62
Лаврова О. В., Петрова М. А., Федосеев Г. Б., Иващенко Т. Э., Шаповалова Е. А., Келембет Н. А., Черменский А. Г., Захарова М. Н., Вахарловская М. В. Факторы риска формирования бронхиальной астмы у детей младшего возраста	69
Мануковский В. А., Кандыба Д. В., Федоренков А. В., Бойков И. В. Пункционная вертебропластика у пациентов с неосложненными компрессионными переломами тел позвонков на фоне системного остеопороза	76
Климович В. Б., Самойлович М. П., Грязева И. В., Крутецкая И. Ю. Моноклональные антитела против иммуноглобулинов в диагностике заболеваний человека	84
Танянский Д. А., Фирова Э. М., Шатилина Л. В., Денисенко А. Д. Связь содержания адипонектина в крови мужчин с обменом углеводов и липидов	96
ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА	
Гончар Н. Т., Мазуров В. И., Столов С. В., Хурцилава О. Г., Щербо А. П. Методологические аспекты последипломного образования врачей-терапевтов в СПбМАПО.....	103
ЮБИЛЕИ	
Гранов А. М., Тутин Л. А., Станжевская Т. И., Бессонов Н. Н. Российский научный центр радиологии и хирургических технологий Министерства здравоохранения и социального развития РФ: история, основные направления исследований, перспективы (к 90-летию со дня основания)	110
Артамонова Воля Георгиевна к 80-летию со дня рождения	118
НЕКРОЛОГ	
Федермессер Виталий Александрович	120

CONTENTS

FORWARD	
Selivanov E. A., Dutkevich I. G. Modern transfusion Medicine	4
REVIEWS	
Kiseleva I. V., Larionova N. V., Grigorieva E. P. and Rudenko L. G. Genetic basis of the attenuation of cold-adapted influenza viruses	15
BASIS MEDICINE	
Smorodinceva E. A., Stolyarov K. A., Marinich I. G., Kiselev O. I. The effect of modern influenza epidemics on population pneumonia mortality	28
Danilova I. A., Merabishvili V. M., Anichkov N. M., Chepick O. F. Analysis of contemporary stomach cancer pathomorphosis on population level	35
Kuznetsov O. K., Korneeva E. P., Stepanova L. A., Ispolatova A. V., Korotkov A. V., Gashinskay O. V., Repko I. A., Bannikov A. I., Zaytsev F. N. Pre-clinical study of the specific activity mucosal inactivated influenza and adenovirus vaccines with adjuvant	46
CLINICAL MEDICINE	
Granov A. M., Yakubovich E. I., Lavnikovich D. M., Evtushenko V. I. Gender difference in methylation of 5' region of <i>DUSP9</i> in clear-cell carcinoma of kidney	55
Skorometz A. A., Amelin A. V., Tarasova S. V., Ignatov Yu. D. The efficacy and safety of different antidepressants and anticonvulsants in chronic daily headache	62
Lavrova O. V., Petrova M. A., Fedoseev G. B., Ivashchenko T. E., Shapovalova E. A., Kelembet N. A., Chermensky A. G., Zaxarova M. N., Vaxarlovskaja M. V. About the risk of BA formation in early kids, born by BA females	69
Manukovsky V. A., Kandyba D. V., Fedorenkov A. V., Boikov I. V. Puncture vertebroplasty of patients with noncomplicated compression fractures of vertebral bodies against the background of systemic osteoporosis	76
Klimovich V. B., Samoilovich M. P., Griazeva I. V., Krutetskaja I. Y. Monoclonal antibodies against immunoglobulins in diagnostics of human diseases	84
Tanjansky D. A., Firova E. M., Shatilina L. V., Denisenko A. D. Relationship of adiponectin content in plasma with the lipid and carbohydrate metabolism in males	96
PREVENTIVE MEDICINE	
Gonchar N. T., Mazurov V. I., Stolov S. V., Khurtsilava O. G., Shcherbo A. P. Methodological aspects postgraduate education therapist in St. Petersburg Medical Academy of Postgraduate Education	103
JUBILEES	
Granov A. M., Tutin L. A., Stanzhevskaja T. I., Bessonov N. N. Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health and Social Development: History, main directions of research, perspectives (on the 90 th anniversary)	110
Artamonova Volay Georgievna on the 80 th anniversary	118
OBITUARY	
Federmesser Vitali Alexandrovich	120



ПРЕЗИДИУМ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

Постановление № 120

г. Москва

Протокол № 8 §4

25 июня 2008 г.

Об утверждении состава Президиума
Северо-Западного отделения РАМН

На основании постановления Общего собрания Северо-Западного отделения РАМН
о выборах состава Президиума СЗО РАМН от 19 июня 2008 года № 2 (протокол № 6)

**Президиум Российской академии медицинских наук
постановляет:**

Утвердить Президиум Северо-Западного отделения РАМН в следующем составе:
Председатель Президиума Северо-Западного отделения РАМН
академик РАМН Ткаченко Борис Иванович

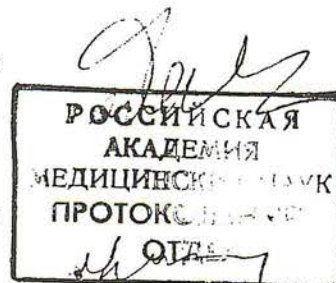
Заместители Председателя Президиума Северо-Западного отделения РАМН:
член-корреспондент РАМН Мазуров Вадим Иванович
член-корреспондент РАМН Майстренко Николай Анатольевич
академик РАМН Тотолян Артем Акопович

Главный ученый секретарь Президиума Северо-Западного отделения РАМН:
академик РАМН Нагорнев Владимир Анатольевич

Члены Президиума Северо-Западного отделения РАМН:
академик РАМН Айламазян Эдуард Карпович
член-корреспондент РАМН Дуданов Иван Петрович
академик РАМН Лобзин Юрий Владимирович
академик РАМН Софронов Генрих Александрович

Президент
Российской академии медицинских наук
академик РАН и РАМН

Главный ученый секретарь
Российской академии медицинских наук
академик РАМН



М. Н. Давыдов

А. М. Сточик

ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Член-корреспондент РАМН СЕЛИВАНОВ Е. А., ДУТКЕВИЧ И. Г.

ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии
и трансфузиологии МЗ и СР РФ»,

ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования»,
Санкт-Петербург

Селиванов Е. А., Дуткевич И. Г. Трансфузиология на современном этапе // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 4–14. ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии МЗ и СР РФ», Санкт-Петербург, 193024, ул. 2-я Советская, 16; ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования», Санкт-Петербург, 193015, ул. Кирочная, 41.

В статье представлены достижения современной трансфузиологии как самостоятельной медицинской дисциплины, структура службы крови России, результаты ее деятельности за 2006 г., особенности организации и деятельности службы крови Северо-Западного региона. Отмечаются имеющиеся трудности в работе службы крови России и основные задачи ее развития и совершенствования.

Ключевые слова: трансфузиология, служба крови России, Северо-Западный регион.

Selivanov E. A., Dutkevich I. G. Modern transfusion Medicine // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 3. P. 4–14. Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, 193024; Medical Academy of Postgraduate Education, St. Petersburg, 193015.

The article is devoted to the progress of modern transfusion medicine as separate medical discipline, the structure of Russian blood transfusion service (BTS), the output of its activity for 2006 year, the specific features of the BTS within the North-West region of Russia. The problems of the BTS in Russia and the main goals of its development are discussed.

Key words: transfusion medicine, blood transfusion service of Russia, North-West region.

В реализации национальной программы «Здоровье» существенное значение имеет все более широкое применение в лечебных учреждениях трансфузионной терапии. Это позволит улучшить результаты лечения, т. е. уменьшить частоту летальных исходов (смертность населения) и инвалидизацию больных, сократить сроки лечения, что, в свою очередь, приводит к снижению экономических потерь, увеличивает длительность жизни и в итоге способствует росту численности населения страны.

Трансфузионная терапия – метод коррекции нарушений гомеостаза посредством направленного изменения свойств, состава и объема циркулирующей крови внутрисосудистым введением трансфузионных средств (крови, ее компонентов и препаратов, кровезаменителей) и трансфузиологическими операциями экстракорпоральной гемокоррекции (эфферентной терапии), физиогемотерапии (лечебным воздействием на кровь физическими факторами) и искусственного кровообращения [3].

Широкое применение трансфузионной терапии (у 30% больных и более) возможно только при наличии службы крови, впервые возникшей в нашей стране. Служба крови – это специальная организация в системе здравоохранения, призванная обеспечивать лечебную сеть трансфузионными средствами, организовывать и контролировать трансфузиологическую помощь в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ).

Научно-методической основой организации и деятельности службы крови, организации трансфузиологической помощи в ЛПУ, методики и техники трансфузионной терапии является трансфузиология (трансфузионная медицина). Трансфузиология как самостоятельная медицинская дисциплина представляет собой систему научных взглядов и практическую деятельность, касающиеся организации службы крови, донорства, технологии приготовления трансфузионных средств, организации и методики трансфузионной терапии.

Трансфузиология зародилась на основе учения о переливании крови, которое развивалось на протяжении нескольких столетий. Но ее становление как самостоятельного раздела медицины стало возможным лишь в XX столетии на основе опыта организации и деятельности службы крови, достижений химии, биохимии, биофизики, иммунологии, генетики, криобиологии, фармакологии, микробиологии, патофизиологии, гематологии и многих других клинических дисциплин.

В современной трансфузиологии выделяют три основных части: общую (теоретическую), производственную и клиническую [1]. Каждая часть включает несколько разделов, при этом некоторые из них могут быть самостоятельными научно-практическими дисциплинами. Число разделов имеет тенденцию к увеличению [4].

ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

Общая	Производственная	Клиническая
Трансфузионная гематология	Организация службы крови	Трансфузионная клиническая патофизиология
Иммуногематология	Донорство	Методика и техника трансфузионной терапии
Трансфузионная микробиология	Технология приготовления трансфузионных средств	Посттрансфузионные осложнения
Трансфузионная криобиология	Трансфузионная биотехнология	Экстракорпоральная гемокоррекция
Трансфузионная экспериментальная патофизиология	Служба иммунологического типирования	Физиогемотерапия
	Служба контроля качества	Перфузиология (искусственное кровообращение)
		Педиатрическая трансфузиология
		Трансфузионная терапия в медицине катастроф

Развитие и достижения трансфузиологии являются одним из важных условий дальнейшего прогресса и впечатляющих успехов различных разделов хирургии и смежных специальностей, анестезиологии и реаниматологии, гематологии, клинической токсикологии, трансплантологии и многих других клинических дисциплин.

Общемедицинское значение, теоретическое и прикладное, прежде всего имеют достижения иммуногематологии, которая изучает групповые антигены и антитела крови, их роль в физиологии, инфекционной и неинфекционной патологии человека, обеспечении безопасности гемотрансфузий и трансплантации органов и тканей, предупреждении иммунологических конфликтов при беременности, увеличении рождаемости здоровых детей.

В крови человека в настоящее время уже обнаружено более 700 различных антигенов во всех форменных элементах и плазменных белках. Поэтому в современном понимании, соответствующем реальности, *группа крови* – это сочетание антигенов эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и плазменных белков, генетически детерминированное (зависящее от генотипа) и являющееся постоянным индивидуальным биологическим свойством каждого индивидуума [2]. Эти разнообразие сочетания антигенов в крови разных людей создают огромное число групп крови, адекватное миллиардам. Достаточно сказать, что только эритроцитарных групп крови (по наиболее важным антигенам эритроцитов) насчитывалось 11 377 408 [14]. С ростом миграции населения растет число генотипов, следовательно, и групп крови.

Это создает все большие трудности для определения группы крови по всем антигенам, предопределяет иммунологический риск гемотрансфузионных осложнений (иммунизацию реципиентов антигенами крови донора, гемолитические и негемолитические осложнения при трансфузиях несовместимой крови и ее компонентов). При строгом соблюдении разработанных правил предупреждения иммунологических опасностей гемотрансфузий этот риск можно в значительной мере уменьшить.

Изучение антигенной структуры крови убедительно показало, что групповые антигены и антитела имеют большое значение в физиологии и патологии человека. От групповых антигенов крови, являющихся компонентами мембраны клеток и частью их рецепторного аппарата, зависят свойства этих мембран. В частности, отсутствие в эритроцитах антигенов системы Резус, а они составляют около 1% мембранных белков, является причиной наследственной гемолитической анемии – болезни Резус-ноль. Антигены крови участвуют в трансмембранном транспорте различных веществ (мочевины, ионов и др.), а также являются рецепторами не только необходимых для клеток биологически активных веществ, но и патогенных вирусов, бактерий и простейших (парвовируса В19, гриппа, ВИЧ, плазмодия малярии, золотистого стафилококка, *Helicobacter pylori* и др.). В настоящее время установлены статистически значимые связи между групповыми антигенами крови (в основном лейкоцитарными) и различными инфекционными и неинфекционными заболеваниями.

Наличие тех или иных антигенов крови или их сочетаний предопределяет большую или меньшую вероятность заболевания, характер течения заболевания (острое или хроническое при вирусных гепатитах), распространенность патологических изменений тканей (при остром инфаркте миокарда), форму заболевания (при сахарном диабете – инсулинзависимый или инсулиннезависимый) и даже возраст наиболее вероятного развития заболевания (при ишемической болезни сердца). Таким образом, антигенная структура крови человека может иметь диагностическое и прогностическое значение, а также обоснованно определять группы риска по той или иной патологии и соответственно планировать диспансеризацию населения.

От групповых антигенов и антител крови родителей и плода зависит течение беременности и здоровье новорожденного. Когда плод наследует от отца антигены, отсутствующие у матери, возможна ее иммунизация и рождение ребенка с гемолитической болезнью (ГБН) или внутриутробная гибель плода. Вероятность этого достаточно велика (по системе АВ0 несовместимы 20–25% браков, а по системе Резус – 13%), однако частота ГБН составляет всего лишь 0,3–0,5% всех родов (это тысячи новорожденных с ГБН), так как существуют защитные механизмы (групповые антитела и антигены), уменьшающие частоту иммунизации матери и возможность патогенного действия ее аллоиммунных антител на организм плода и новорожденного. На основе изучения иммунологической природы ГБН разработаны и применяются эффективные методы профилактики ГБН, обусловленной несовместимостью по антигену резус. Введение препарата иммуноглобулина анти-D при первой и последующих беременностях до родов и после них (не позже 48–72 ч) обеспечивает рождение здоровых детей. Этот метод профилактики оказался эффективным и при абортгах. Более широкое его применение и индивидуализация дозы вводимого иммуноглобулина будут способствовать увеличению рождаемости и повышению уровня здоровья новорожденных.

Изучение взаимосвязей антигенов крови и иммунологической реактивности к различным бактериальным и вирусным антигенам, используемым для иммунизации доноров с целью получения иммуноглобулинов направленного действия (антистафилококкового, противосинегнойного, противоклещевого и др.) и антитоксических сывороток (противостолбнячной и др.), позволило целенаправленно отбирать доноров с высокой иммунологической реактивностью на основании их антигенной структуры крови [16].

Для уменьшения иммунологической опасности гемотрансфузий важное значение имеет внедрение в практику современных и более надежных методик определения групповых антигенов и антител, проведение проб на совместимость с использованием автоматизированных систем на основе гелевой методики, магнитизации эритроцитов и др. Этому же способствует все более широкое применение индивидуального подбора для реципиента донорской крови и ее компонентов.

Внедрение в практику производственной трансфузиологии достижений генетики и современных биотехнологий позволяет уменьшить потребность в донорской крови. В нашей стране и ряде других стран уже выпускаются типизирующие моноклональные сыворотки на основе гибридомной техники – цоликлоны – для определения антигенов различных эритроцитарных антигенов вместо гемагглютинирующих стандартных сывороток из донорской крови. Эта же технология используется для получения иммуноглобулина анти-резус для профилактики ГБН, который обычно приготавливали из плазмы крови иммунных доноров. С помощью методов генной инженерии уже налажен выпуск очищенных и безопасных антигемофильных препаратов, интерферонов, эритропоэтина, регуляторных миелопептидов. Все эти технологии, внедренные в практику работы службы крови, значительно сокращают потребность в плазме донорской крови, следовательно, и в донорах. Уже стоит вопрос о возможности использования методов биотехнологии для производства других лечебных препаратов человеческого белка (альбуминов, глобулинов). Имеются предпосылки для производства клеточных компонентов крови методом промышленного культивирования на питательных средах [10].

Для обеспечения безопасности и эффективности трансфузионной терапии, увеличения выпуска трансфузионных средств, преимущественного использования в клинической практике компонентов донорской крови большое значение имеют достижения производственной трансфузиологии по разработке и внедрению новых методов плазмоцитафереза, методов вирусной инактивации плазмы, лейкофилтрации крови и ее компонентов, технологий приготовления препаратов крови. Последнее позволяет без увеличения объемов заготовки донорской плазмы на 26% повысить выпуск альбумина, в 2 раза – криопреципитата, в 5 раз – иммуноглобулинов.

Лечебные возможности трансфузионной терапии постоянно возрастают в связи с созданием различных групп кровезамещающих растворов (гемокорректоров) [12]. Все они обладают комплексным лечебным воздействием на организм больного, корригируя раз-

личные нарушения гомеостаза (изменения объема циркулирующей крови и плазмы, реологических, осмотических, онкотических, буферных, кислород-транспортных свойств крови, электролитного состава крови). Однако по ведущему лечебному эффекту их разделяют на несколько групп: 1) гемодинамического (волемического и реологического) действия; 2) дезинтоксикационного действия; 3) регуляторы водно-солевого баланса и кислотно-основного состояния крови; 4) инфузионные антигипоксанты (содержат компоненты цикла Кребса – фумарат или сукцинат натрия); 5) препараты для парентерального питания (источники азота, энергии, витаминов, микроэлементов); 6) переносчики кислорода (на основе перфторуглеродных соединений – перфторан и модифицированного гемоглобина – геленпол). Последняя группа гемокорректоров, разрешенных к клиническому применению, впервые создана в нашей стране (Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Российский НИИ гематологии и трансфузиологии Росздрава). Их значение для клинической практики трудно переоценить, так как они являются единственным средством нормализации кислородтранспортной функции крови при кровопотере и анемиях, если невозможно для этой цели использовать эритроцитсодержащие компоненты крови (при их отсутствии в лечебном учреждении, отказе больного от гемотрансфузии по религиозным или иным соображениям, невозможности подобрать совместимые гемокомпоненты). Более того, они имеют существенные преимущества перед донорской кровью и ее компонентами, так как исключают иммунологические осложнения и заражение гемотрансмиссивными инфекциями, т. е. иммунологический и инфекционный риск трансфузионной терапии.

Уменьшить потребность в донорской крови и ее компонентах, тем самым снизить остроту проблемы донорства (число доноров имеет стойкую тенденцию к снижению) позволяет все более широкое внедрение в клиническую практику системы сбережения крови. Основными ее направлениями являются максимальное исключение необоснованных гемотрансфузий, применение эритропоэтинов при анемиях, использование щадящей оперативной техники и малоинвазивных оперативных вмешательств (эндовидеохирургических вмешательств), использование для возмещения операционной кровопотери собственной крови больных в виде аутогемотрансфузий (переливание консервированной аутокрови, заготовленной до операции или на операционном столе) и реинфузии (обратное переливание аутокрови, излившейся в серозные полости при травмах, в операционную рану или собранной из дренажей в послеоперационном периоде с помощью аппаратов cell saver). Ауто-

гемотрансфузия позволяет уменьшить потребность в донорской крови и ее компонентах при плановых операциях на 50–67% и более, она должна стать одной из основных трансфузионных программ при оперативных вмешательствах.

В настоящее время содержание понятия «трансфузионная терапия» существенно расширилось, так как изменять свойства и состав циркулирующей крови возможно воздействием на нее вне организма различными методами эфферентной терапии (гемаферез, гемо- плазмо-, лимфосорбция, ультра- и гемо- фильтрация, гемодиализация, криопреципитация и др.). С помощью этих методов не только удаляют из крови патогенные компоненты (клетки крови и компоненты плазмы), но и корректируют состав и свойства крови в необходимом больному направлении. Поэтому более правильно называть эти методы *экстракорпоральной гемокоррекцией*, как было предложено В. В. Чаленко и Ф. Х. Кутушевым в 1990 г. [15]. Методы экстракорпоральной гемокоррекции широко применяются при лечении все большего числа заболеваний и травм, а не только при отравлениях и эндотоксикозах.

В различных областях клинической медицины все чаще используется фотогемотерапия, т. е. воздействие на кровь в сосудистом русле или вне организма оптическим диапазоном ультрафиолетового, видимого и инфракрасного спектра. При этом модифицируются различные компоненты крови на молекулярном уровне в виде структурно-функциональных и биохимических изменений в клетках и плазме крови как результат фотохимических реакций после поглощения ими фотонов. Эти изменения на уровне организма вызывают нормализацию различных показателей гомеостаза при внутрисосудистой фотомодификации крови или переливании фотомодифицированной экстракорпорально крови. Для изучения механизмов лечебного действия различных методик фотогемотерапии и их клинической оценки (на основании более 30 тыс. сеансов фотогемотерапии) и разработки показаний и противопоказаний к этому лечебному методу большое число исследований выполнено на кафедре трансфузиологии и гематологии СПбМАПО в 1983–2005 гг. [5]. В частности, были определены биоэффективные дозы и режимы фотогемотерапии (И. Г. Дуткевич), которые позволяют получать направленные лечебные эффекты. При их применении (для этого необходимо иметь различные аппараты для фотомодификации крови) фотогемотерапия оказалась высокоэффективным и безопасным лечебным, профилактическим и оздоровительным методом при различных по своему этиопатогенезу заболеваниях и травмах.

Трансфузионная терапия в настоящее время дает возможность клиницисту быстро и эффективно корригировать нарушения реологических, осмотических, онкотических, буферных, кислородтранспортных, защитных свойств крови, изменения ее клеточного состава и объема (гиповолемии и гиперволемии). В этом отношении трансфузионная терапия является уникальным лечебным методом. Только за счет коррекции указанных выше изменений свойств, состава и объема циркулирующей крови имеется реальная возможность ликвидировать или уменьшить имеющиеся у больного патологические процессы и нарушения гомеостаза. Такое понимание лечебных возможностей трансфузионной терапии позволило рационально сформулировать показания и противопоказания к ее применению по патогенетическому [3, 4], а не по нозологическому принципу, распространенному до сих пор. Под показаниями к трансфузионной терапии следует понимать конкретные нарушения гомеостаза и функций организма, которые можно устранить или уменьшить, воздействуя на свойства, состав или объем циркулирующей крови. Эти изменения, как показывают экспериментальные и клинические исследования, являются однотипными при различных заболеваниях и травмах, поэтому требуют одинаковых программ трансфузионной терапии.

С патогенетических позиций *показания к трансфузионной терапии* можно представить следующим образом: 1) гиповолемия; 2) гиперволемия; 3) дефицит форменных элементов (анемии, тромбоцитопении, гранулоцитопении); 4) нарушения иммунитета (дефицит плазменных прокоагулянтов, первичных физиологических антикоагулянтов, наличие ингибиторов прокоагулянтов); 5) нарушения иммунитета (иммунодефициты, аутоиммунные и аллергические заболевания); 6) нарушения водно-солевого и белкового обмена; 7) нарушения кислотно-основного состояния крови; 8) невозможность или недостаточность энтерального питания (обеспечение полного или частичного парентерального питания); 9) нарушения реологических свойств крови и микроциркуляции; 10) эндо- и экзотоксикозы; 11) нарушения регенераторных процессов; 12) артериальная гипоксемия (при нарушениях оксигенации крови в легких); 13) обеспечение искусственного кровообращения (общей и регионарной перфузии). Естественно, что указанный перечень показаний не может быть окончательным, так как с появлением трансфузионных средств и трансфузиологических операций с новыми лечебными возможностями он будет расширяться.

Такое понимание показаний к трансфузионной терапии, как показывает наш клинический опыт, позволяет клиницисту обоснованно решать вопрос

о необходимости ее применения и максимально исключить необоснованные гемотрансфузии, частота которых в России и за рубежом достигает еще почти 30%.

Указанные достижения в различных областях трансфузиологии явились основанием к официальному выделению ее в самостоятельную медицинскую специальность и в нашей стране. По инициативе кафедры трансфузиологии и гематологии СПбМАПО и РосНИИ гематологии и трансфузиологии были разработаны «Положение о враче-трансфузиологе» и «Квалификационная характеристика врача-трансфузиолога». Приказом Минздрава РФ № 172 от 29.05.97 в номенклатуру врачебных специальностей введена новая специальность «трансфузиология» и утверждены упомянутые выше документы.

Широкое применение трансфузионной терапии, обеспечение ее максимальной безопасности и эффективности возможно только при наличии в системе здравоохранения службы крови [6].

Служба крови России представлена сетью государственных учреждений и подразделений ЛПУ (государственных и муниципальных), осуществляющих заготовку крови, ее компонентов и препаратов, хранение и транспортировку гемотрансфузионных средств, организацию и контроль трансфузиологической помощи в лечебных учреждениях. Служба крови системы Минздравсоцразвития РФ взаимодействует со службой крови РАМН, а также ведомственными службами крови (Министерства обороны РФ и др.).

Государственными учреждениями службы крови по состоянию на 2006 г. [11] являются Гематологический научный центр РАМН, Российский НИИ гематологии и трансфузиологии (головное учреждение службы крови Минздравсоцразвития РФ), Кировский НИИ гематологии и переливания крови, 182 СПК (175 республиканских, краевых, областных, городских СПК, а также 6 СПК Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию и Центр крови Федерального медико-биологического агентства), 745 ОПК больниц и более тысячи кабинетов переливания крови (КПК) лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ), в 163 из которых заготавливалась кровь и ее компоненты для экстренных гемотрансфузий. Кроме того, в некоторых ЛПУ имеются отделения (кабинеты) гравитационной хирургии крови как самостоятельные подразделения.

Непосредственно организацию и контроль трансфузиологической помощи в ЛПУ осуществляют ОПК или КПК, а в ЛПУ, в которых они отсутствуют, – врачи, ответственные за организацию трансфузионной терапии. В зависимости от подчиненности обеспечивается финансирование деятельности учреждений

и подразделений службы крови. Административное руководство службой крови осуществляет Минздравсоцразвития и другие министерства и ведомства РФ, а также органы здравоохранения административных территорий, в ЛПУ – их главные врачи, а общее организационное и научно-методическое – Российский НИИ гематологии и трансфузиологии. В Минздравсоцразвития и других министерствах и ведомствах РФ и органах здравоохранения административных территорий функция организационно-методического руководства возложена на внештатных главных трансфузиологов, которые назначаются органом здравоохранения из числа наиболее грамотных специалистов службы крови (обычно это главные врачи СПК).

ГНЦ РАМН (НИИ переливания крови имени А. А. Богданова) разрабатывает фундаментальные проблемы трансфузиологии и службы крови, принимает участие в подготовке инструктивно-методических материалов для службы крови и по клинической трансфузиологии.

Российский НИИ гематологии и трансфузиологии (РосНИИГТ) является головным учреждением по республиканским отраслевым программам по гематологии и трансфузиологии, организационно-методическому и научному руководству службой крови России. РосНИИГТ и **Кировский НИИ гематологии и переливания крови** разрабатывают научные и практические проблемы и вопросы общей, производственной и клинической трансфузиологии, внедряют в работу учреждений службы крови и ЛПУ достижения трансфузиологической науки и практики.

Базовые станции переливания крови наряду с производственной работой оказывают помощь учреждениям службы крови своей зоны по всем организационным и методическим вопросам трансфузиологии, осуществляют контроль за деятельностью службы крови и состоянием трансфузиологической помощи в ЛПУ своей зоны, предоставляют необходимые сведения и отчеты по деятельности службы крови и трансфузиологической помощи в ЛПУ своей зоны в РосНИИГТ и Минздравсоцразвития РФ.

Станции переливания крови или центры крови (республиканские, краевые, областные, городские) являются самостоятельными ЛПУ, но могут входить в состав специализированных медицинских объединений. Они обеспечивают ЛПУ своего региона компонентами и препаратами донорской крови, а также являются организационно-методическими и консультативными центрами по пропаганде донорства, заготовке крови и ее компонентов, клинической трансфузиологии для ЛПУ. На основе единоначалия СПК возглавляет главный врач, имеющий подготовку по организации работы СПК и ОПК, опыт работы

по трансфузиологии не менее 2 лет, а также специальную подготовку по экономике здравоохранения и менеджменту. СПК должны быть ориентированы на заготовку в основном компонентов и препаратов донорской крови, поэтому должны более широко применять методику донорского плазмоцитафереза, криоконсервирование компонентов крови, обеспечивать карантинизацию плазмы и лейкофильтрацию крови и ее компонентов. На СПК должна быть организована круглосуточная консультативная помощь ЛПУ по всем вопросам клинической трансфузиологии.

В зависимости от объемов заготовки цельной крови в год и ее переработки СПК делятся на 4 категории: первая – 8–10 т; вторая – 6–8 т; третья – 4–6 т; четвертая – 1,5–4 т. Если СПК заготавливает более 10 т крови в год, то она считается внекатегорийной. В зависимости от категоричности СПК имеют штатный состав в соответствии с приказом МЗ СССР № 155 от 12.04.90 и приложением № 1 приказа Минздрава РФ № 230 от 09.06.2003. Главный врач СПК с учетом особенностей ее производственной деятельности разрабатывает конкретную штатно-организационную структуру. Производственная деятельность СПК определяется договорами с территориальными органами здравоохранения, ЛПУ, другими предприятиями и учреждениями на основе хозрасчета. План работы СПК утверждается территориальным органом здравоохранения и согласовывается базовой СПК. При планировании производственной деятельности СПК рекомендуется учитывать нормативы потребности в гемотрансфузионных средствах на 1 млн населения, разработанные РосНИИГТ (1990): консервированной крови – 1500 л, плазмы всех видов – 9000 л, эритроцитсодержащих средств – 10 000 л, криопреципитата – 8500 доз, альбумина 10% – 1400 л, иммуноглобулинов всех видов – 60 000 доз.

Отделение переливания крови является структурным подразделением ЛПУ (больницы, клиники, научно-исследовательских институтов, медицинских институтов, университетов, академий и т. д.). Оно выполняет роль трансфузиологического центра данного учреждения, т. е. обеспечивает его трансфузионными средствами, стандартными реактивами для иммуногематологических исследований, трансфузионными системами, организует и контролирует трансфузионную терапию, оказывает консультативную помощь и проводит обучение медицинского персонала по клинической трансфузиологии. ОПК организуется при потребности ЛПУ в цельной донорской крови для трансфузии и фракционирования не менее 300 л в год. Административное руководство ОПК осуществляет руководитель ЛПУ, а организационно-методическое – территориальная СПК. Заведующим ОПК назначается сертифицированный

ный врач-трансфузиолог. В ОПК донорские кадры формируются за счет безвозмездных доноров среди населения своего региона, а также среди родственников и друзей больных. ОПК должны полностью обеспечивать свое ЛПУ консервированной кровью для переливания и в максимальной степени – компонентами крови, широко использовать заготовку аутогенной крови и ее компонентов, внедрять реинфузии крови, новые трансфузионные средства и методы трансфузионной терапии. Важна роль ОПК в систематической подготовке медицинского персонала по клинической трансфузиологии. При необходимости в составе ОПК могут организовываться кабинеты (группы) гравитационной хирургии крови для выполнения экстракорпоральной гемокоррекции и фототерапии. В зависимости от объема заготовки цельной крови в год существуют ОПК трех категорий: третьей – 300–700 л, второй – 701–1000 л, первой – 1001–1500 л. Ими определяется штатный состав ОПК (от 9 до 18 должностей). К сожалению, типовых проектов ОПК еще нет, поэтому часто они располагаются в приспособленных помещениях, но должны отвечать санитарно-эпидемиологическим требованиям. Кроме врачей-трансфузиологов ОПК, в каждом лечебном отделении назначается врач (и его дублер), ответственный за организацию трансфузионной терапии.

В ЛПУ, в которых нет ОПК, организацию и контроль трансфузиологической помощи осуществляют врачи, ответственные за организацию трансфузионной терапии (в целом по ЛПУ и в каждом лечебном отделении). Эти врачи (и их дублеры) назначаются главным врачом (руководителем) ЛПУ. При этом врач, ответственный за организацию трансфузионной терапии в ЛПУ, должен иметь сертификат врача-трансфузиолога, а врачи, ответственные за организацию трансфузионной терапии в лечебном отделении, проходят специальную подготовку по клинической трансфузиологии. Во многих ЛПУ врачи, ответственные за организацию трансфузионной терапии в целом по ЛПУ, возглавляют *кабинет переливания крови* (КПК) с соответствующим помещением, в помощь ему выделяется средний медицинский работник. Желательно, чтобы должность врача, ответственного за организацию трансфузионной терапии в ЛПУ, была штатной, либо его лечебная нагрузка уменьшается на 50%. Обязанности врачей, ответственных за организацию трансфузионной терапии, и среднего медицинского работника определены в приложении 4 к приказу Минздрава РФ № 341-ДСП от 29.12.88.

Амбулаторным больным с гематологическими и онкологическими заболеваниями гемотрансфузионную терапию в ряде городов осуществляют в ОПК

(как в Санкт-Петербурге) или кабинетах (пунктах) переливания крови при гематологических и онкологических стационарах или диспансерах.

Для улучшения трансфузиологической помощи в ЛПУ, повышения эффективности и безопасности трансфузионной терапии в руководствах ВОЗ и ведущими отечественными трансфузиологами рекомендуется создание трансфузиологической комиссии (комитета по переливанию крови, совета по трансфузиологии). Совет по трансфузиологии разрабатывает рекомендации по клинической трансфузиологии применительно к условиям работы своего ЛПУ, осуществляет систематический контроль (аудит) организации, методики и тактики трансфузионной терапии, проводит тщательный разбор посттрансфузионных осложнений и предлагает меры их профилактики, анализирует состояние и организацию подготовки медицинского персонала по клинической трансфузиологии, разрабатывает и представляет администрации ЛПУ предложения по совершенствованию трансфузиологической помощи. В состав Совета входят представитель администрации ЛПУ, заведующий ОПК или врач, ответственный за организацию трансфузионной терапии в ЛПУ, заведующие лечебными отделениями, в которых применяется трансфузионная терапия.

Несмотря на недостаточное финансирование и материальное обеспечение, трудности с комплектованием донорских кадров, служба крови России выполняет стоящие перед ней задачи. В 2006 г. [11] было заготовлено 1859 828 л консервированной крови, 94,6% которой было использовано на приготовление компонентов, препаратов и стандартных реактивов, более 500 000 л плазмы (59,5% ее использовано для приготовления компонентов и препаратов). Это позволило реализовывать в клинической практике принципы компонентной гемотерапии (для трансфузий использовано только 0,2% заготовленной крови, при гемотрансфузиях соотношение консервированная кровь:эритроциты было 1:80). Брак крови по маркерам гемотрансмиссивных инфекций в 2006 г. составил 3,8%. Цельной крови заготовлено на 1 жителя 11,6 мл, а на 1 койку – 1350 мл. СПК было заготовлено 77% всей крови, ОПК – 22,9%, КТГ больниц – 0,1%. Количество доноров на 1000 населения было 12,7 (безвозмездных доноров – 87,6%, кадровых – 12,4%; первичных доноров – 35,6%; доноров плазмы – 13,1%, доноров клеток крови – 0,5%, иммунных доноров – 0,8%). Средняя кратность кроводач от 1 донора в год составила 1,3, плазмодач – 3,9. Средний объем одной безвозмездной кроводачи составил 421 мл, плазмодачи – 351 мл. Эту напряженную производственную работу выполняют 20 961 работник службы крови (врачей – 3640, средних медицинских

работников – 9304, младших медицинских работников – 3458, инженерно-технического персонала – 722, прочих – 3837). В силу дефицита кадров и не достаточно высокой оплаты труда в службе крови значительно развито совместительство (в среднем на 1,7 ставки), что не может способствовать эффективности и качеству работы.

В настоящее время сохраняется тенденция к снижению числа доноров, объема заготовки консервированной крови, лейкоцитной и тромбоцитной массы, плазмы и препаратов крови, но увеличиваются заготовка криоконсервированных эритроцитов и эритроцитной взвеси, тромбоцитарного концентрата, выпуск иммуноглобулинов для внутривенного применения. Обеспеченность препаратами крови составляет всего лишь 17–25% от нормативов ВОЗ, так как они приготавливаются лишь на 21 СПК и в ограниченном ассортименте (11 наименований). Не в полной мере еще обеспечивается потребность лечебной сети в компонентах донорской крови (заготавливается только 12 разновидностей гемокомпонентов) [11].

Совершенствование работы службы крови России невозможно без дальнейшей разработки и внедрения мероприятий по стандартизации, лицензированию, сертификации и аккредитации учреждений службы крови. В этом отношении имеет большое значение приказ Росздравнадзора № 101-Пр/06 от 19.01.2006, регламентирующий единые требования и условия для лицензирования и инспекционных проверок СПК.

В последние годы определенные изменения претерпела и служба крови Северо-Запада [7]. В ряде территорий идет реорганизация (централизация) службы крови в соответствии с федеральным законом от 22.08.2004 № 122-ФЗ. Особо следует отметить весьма важное событие для службы крови региона – завершение капитальный ремонт и реконструкция по мировым стандартам нового здания Санкт-Петербургской базовой СПК. Уже сейчас идет оснащение станции новейшим оборудованием, которое позволяет использовать современные технологии.

В развитии донорского движения в целом по региону достигнуты определенные положительные результаты [7]. Так, если в 2004 г. в сравнении с 2003 г. общее количество доноров уменьшилось на 5%, то в 2005 г. в сравнении с 2004 г. только на 1% и составило 149 165 человек. В двух территориях региона количество доноров увеличилось: в Мурманской области на 11%, в Санкт-Петербурге – на 6%. Значительно уменьшился отток донорских кадров в Архангельской, Вологодской областях, в Республике Коми, но, несмотря на это, общее число доноров в

этих территориях в течение 2005 г. все-таки сократилось соответственно на 8, 4 и 3%. Наиболее сложная ситуация с донорами в Псковской области, где их количество уменьшилось в течение 2005 г. на 25%. Количество доноров на 1000 населения осталось на уровне 2004 г. – 11,8 (по России – 13,7). Значительно выше регионального и российского этот показатель в Республике Коми – 17,3, в Новгородской области – 16,1, в Мурманской области – 15,5. Наименьшее число доноров на 1000 населения стабильно в Ленинградской области: 2004 г. – 8,4, 2005 г. – 8,3. В структуре донорских кадров Северо-Запада нашло дальнейшее развитие безвозмездное донорство. В 2005 г. его доля увеличилась по сравнению с 2004 г. на 11,9% и составила 88,7% (по России – 86,7%). В Санкт-Петербурге все доноры сдают кровь безвозмездно. Число доноров, сдавших кровь впервые, в 2005 г. по сравнению с 2004 г. существенно не изменилось и составило 34% (по России – 35,5%). Выше среднерегионального и среднероссийского этот показатель в Санкт-Петербурге, где доля первичных доноров достигла 48,1%. Доноры плазмы имеются во всех территориях региона, однако их количество в 2005 г. также практически осталось на уровне 2004 г. и составило 8,1% (по России – 11,4%). Наибольшее количество доноров плазмы в Республике Коми – 17%; на высоком уровне этот вид донорства в Архангельской и Мурманской областях – соответственно 12,9 и 12,8%.

Число доноров клеток в 2005 г. увеличилось на 0,2% и составило 0,7%, что почти в 2 раза выше среднероссийского показателя. 2,2% составляют доноры клеток в Карелии, 1,6% – в Вологодской области, 1,1% – в Ленинградской области. Отсутствуют доноры клеток в Архангельской и Новгородской областях, а также в Республике Коми [7].

Число иммунных доноров в общем количестве доноров, напротив, уменьшилось с 0,4% в 2004 г. до 0,3% в 2005 г. (по России – 0,8%). Лидирует в регионе по количеству иммунных доноров Псковская область – 1,8%. Отсутствуют иммунные доноры в Республике Карелия и Ленинградской области.

Обращает на себя внимание тот факт, что в регионе наметилась тенденция к сокращению числа кроводач при одновременном увеличении количества плазмодач. Так, по сравнению с предыдущим годом количество кроводач в 2004 г. сократилось на 3,4%, в 2005 г. – на 5,3%, а плазмодач, напротив, в 2004 г. выросло на 3,4%, в 2005 г. – на 3,1% [7].

По имеющимся у нас данным, подобная ситуация отмечается и в целом по России.

В 2005 г. в Северо-Западном регионе значительно, на 48 мл, увеличился средний объем кроводачи. Возросла и кратность плазмодач (до 7,4). В

итоге этот показатель в 1,8 раза превысил среднероссийский (4,1). Из общего количества плазмадач однократные составили 59,5%, двукратные – 31,9%, аппаратные – 8,5%; в Санкт-Петербурге на долю аппаратных плазмадач приходится 65,3%. Данные об использовании сырьевых ресурсов говорят о том, что в 2005 г. в регионе переработка форменных элементов на компоненты увеличилась на 8,3% и составила 80%, что на 19,8% больше, чем в среднем по России. В Республике Карелия переработано на компоненты 97,4% эритроцитов, в Санкт-Петербурге – 95%, в Псковской области – 91,7% [7].

Осуществляя производственную деятельность, служба крови региона постоянно работает над внедрением новых технологий. Так, на всех СПК и в ряде ОПК Санкт-Петербурга, Республики Карелия, Архангельской, Ленинградской и Мурманской областей внедрен метод плазмофереза; пять учреждений службы крови (Санкт-Петербургская ГСПК, три ОПК городских больниц Санкт-Петербурга – Св. Елизаветы, Св. Георгия, № 15 – Карельская РСПК) освоили и широко внедрили плазмоферез с применением аппаратов. Все СПК региона, а также ряд ОПК четырех территорий (Санкт-Петербурга, Республики Карелия, Ленинградской и Мурманской областей) освоили и осуществляют карантинизацию СЗП. 11 СПК и большинство ОПК Санкт-Петербурга и Ленинградской области освоили и осуществляют фильтрацию гемокомпонентов [7].

Таким образом, можно сделать вывод, что в деятельности службы крови Северо-Запада в 2005 г. имели место определенные положительные сдвиги:

- осуществляется реструктуризация службы крови, модернизация технологических процессов;
- снизился темп сокращения донорских кадров;
- увеличилось число доноров, сдавших кровь безвозмездно;
- возросла средняя доза кроводачи;
- уменьшился брак крови;
- возросло число плазмадач;
- увеличилась переработка форменных элементов крови на компоненты;
- расширен ассортимент выпускаемой продукции;
- все шире используются новые технологии заготовки гемокомпонентов.

Вместе с тем остается значительное количество проблем, которые требуют своего решения, и в первую очередь это:

- дальнейшее развитие донорского движения;
- безусловное внедрение новых современных технологий производства гемокомпонентов;
- решение вопроса обеспеченности ЛПУ препаратами крови.

Концепция развития службы крови в Российской Федерации в 2004–2010 гг., проект которой одобрен Коллегией Минздрава РФ и Президиумом РАМН (11.11.2003 г.), и решения совещания «Совершенствование клинической и производственной деятельности учреждений службы крови» (2004) [9] определили основные мероприятия совершенствования организации и деятельности службы крови России. Их реализация позволит обеспечить возрастающие потребности клинической медицины в гемотрансфузионных средствах, максимально возможную безопасность и эффективность гемотрансфузионной терапии, соответствующие мировым стандартам. Для этого необходимо:

- адекватное финансирование (с привлечением частных инвестиций) и материально-техническая база службы крови, соответствующие мировому уровню;
- совершенствование и унификация нормативных документов по службе крови с приведением их в соответствие с документами ВОЗ и Совета Европы (но с учетом реальных условий для организации донорства и производственной деятельности учреждений службы крови в России);
- централизация высокотехнологичных и материалоёмких процессов (лабораторного тестирования с использованием полимеразной цепной реакции и приборов-автоматов, приготовление компонентов и препаратов крови, их долгосрочное хранение и т. д.) в крупных специализированных учреждениях (центрах плазмафереза и др.) службы крови (это позволит сократить потребность в специальном оборудовании только для производства гемокомпонентов на 70%), разработка и внедрение автоматических технологических линий для приготовления компонентов и препаратов крови, т. е. индустриализация службы крови;
- компьютеризация и внедрение информационных технологий на всех этапах производственной трансфузиологии;
- совершенствование государственной политики, законодательной и нормативно-правовой базы добровольного безвозмездного донорства крови и ее компонентов, повышение престижа донорства, развитие пропаганды донорства;
- разработка и внедрение эффективных методов вирусиактивации компонентов крови;
- переход к более широкой заготовке эритроцитной взвеси (особенно на растворах, повышающих их лечебную эффективность);
- расширение производства гемокорректоров-переносчиков кислорода;

- разработка стандартов оказания трансфузиологической помощи с более широким применением аутогенной крови и ее компонентов;
- дальнейшее совершенствование последипломной подготовки по производственной и клинической трансфузиологии врачей службы крови и врачей-клиницистов, организация системы подготовки специалистов-технологов для службы крови, среднего медицинского и технического персонала для учреждений службы крови.

Повышению уровня организации трансфузиологической помощи в ЛПУ будут способствовать впервые предложенные специалистами РНИИГТ и службы крови Санкт-Петербурга штатные нормативы трансфузиологической службы ЛПУ. Вместо ОПК, врачей, ответственных за организацию трансфузионной терапии в ЛПУ, и КПК предлагается организовать трансфузиологические центры, трансфузиологические отделения и кабинеты трансфузионной терапии. В частности, «Положение о кабинете трансфузионной терапии» было утверждено Комитетом по здравоохранению Санкт-Петербурга в 1999 г. [8].

Трансфузиологические отделения должны заменить ОПК и отделения гравитационной хирургии крови в ЛПУ, выполняя их функции. Они могут быть трех категорий со штатным составом (врачи трансфузиологи, врачи-лаборанты, средние и младшие медицинские работники, технический персонал), который зависит от потребности ЛПУ в компонентах крови (доз плазмы и эритроцитов) и аутогенной крови, количества трансфузий гемокомпонентов. Эти отделения могут действительно быть полноценными трансфузиологическими центрами ЛПУ.

Кабинеты трансфузионной терапии (КТТ) должны быть организованы во всех ЛПУ, в которых нет трансфузиологических отделений. В зависимости от трансфузиологической активности в ЛПУ предусматривается штатный состав (от 1,25 до 3,5 должности) врачей-трансфузиологов, врачей-лаборантов, средних и младших медицинских работников. При выполнении операций эфферентной терапии, для заготовки аутогенной крови и при числе трансфузий гемокомпонентов более 3000 в год в штат КТТ вводятся дополнительные должности. В «Положении о КТТ» указываются обязательные набор помещений и перечень оснащения.

Совершенствованию организации трансфузиологической службы в ЛПУ, повышению безопасности и лечебной эффективности трансфузионной терапии, несомненно, способствуют разработанные сотрудниками Российского НИИ гематологии и переливания крови методические рекомендации, в которых отражены требования к аккредитации ЛПУ по трансфузиологии [13].

Функционирование службы крови и трансфузиологической службы в ЛПУ, широкое применение в лечебной практике трансфузионной терапии, обеспечение ее высокой эффективности и безопасности невозможны без организации систематической подготовки врачей по всем вопросам трансфузиологии. С этой целью впервые в нашей стране и мире в 1963 г. по приказу Минздрава РСФСР на хирургическом факультете Ленинградского института усовершенствования врачей (ныне Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования) была организована кафедра трансфузиологии и гематологии (ее организатором и заведующим до 1988 г. был проф. Г. В. Головин, с 1988 по 1998 г. – проф. И. Г. Дуткевич, с 1998 г. – проф. Е. А. Селиванов). Сотрудниками кафедры были разработаны первые программы и учебные планы циклов общего и тематического усовершенствования врачей службы крови и ЛПУ по общей, производственной и клинической трансфузиологии, которые были утверждены Минздравом СССР и используются в работе появившихся позже кафедр аналогичного профиля в других ГИДУВах и факультетах последипломной подготовки врачей медицинских вузов. Только на кафедре трансфузиологии и гематологии СПбМАПО ежегодно проходят обучение на циклах, в том числе и выездных в разные регионы России, около 300 врачей учреждений службы крови и ЛПУ.

Литература

1. Гаврилов О. К. Содержание, предмет и задачи трансфузиологии // Руководство по общей и клинической трансфузиологии / Под ред. Б. В. Петровского. М.: Медицина, 1979. С. 5–10.
2. Дуткевич И. Г. Основы изосерологии // Г. В. Головин, И. Г. Дуткевич, Б. Г. Декстер, С. М. Ментешавили. Руководство по трансфузиологии для врачей отделений переливания крови больниц. Л.: Медицина, 1975. С. 40–97.
3. Дуткевич И. Г. Возможности трансфузионной медицины и показания к ее применению // Трансфузионная медицина: спец. выпуск журнала «Медицинские технологии». 1995. № 5. С. 44–48.
4. Дуткевич И. Г. Достижения и актуальные проблемы трансфузиологии: Актовая речь на заседании Ученого совета СПбМАПО. СПб., 1998. 20 с.
5. Дуткевич И. Г., Марченко А. В., Снопов С. А. Экстракорпоральная фототерапия. СПб.: Наука, 2006. 400 с.
6. Дуткевич И. Г., Селиванов Е. А. Организация трансфузиологической службы в России // Ю. Л. Шевченко, В. Н. Шабалин, М. Ф. Заривчацкий. Руководство по общей и клинической трансфузиологии. СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2003. С. 25–42.

7. Красняков В. К., Щелкунова Л. В., Стахова Н. В., Высоцкая М. В. Служба крови Северо-Западного региона Российской Федерации в 2005 году // Трансфузиология. 2007. № 3–4. С. 23–30.
8. Положение о кабинете трансфузионной терапии (проект) // Вестник службы крови Российской Федерации. 2000. № 2. С. 61–64.
9. Решение совещания «Совершенствование клинической и производственной деятельности учреждений службы крови» // Трансфузиология. № 4. С. 108–110.
10. Румянцев А. Г., Аграненко В. А. Клиническая трансфузиология. М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1997. С. 20.
11. Селиванов Е. А., Данилова Т. Н., Дегтярева И. Н. и др. Служба крови России в 2006 году // Трансфузиология. № 3–4. С. 4–22.
12. Селиванов Е. А., Кочетыгов Н. И., Заривчацкий М. Ф. и др. Современные кровезаменители // Ю. Л. Шевченко, В. Н. Шабалин, М. Ф. Заривчацкий, Е. А. Селиванов. Руководство по общей и клинической трансфузиологии. СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2003. С. 177–212.
13. Селиванов Е. А., Литманович К. Ю., Солдатенков В. Е., Белов Е. В. Критерии оценки качества и безопасности трансфузионной терапии в лечебно-профилактических учреждениях при их аккредитации: Методические указания № 2001/110 // Трансфузиология. 2003. № 4. С. 111–128.
14. Умнова М. А. Изосерологические системы крови и их значение в трансфузиологии // Групповые системы крови человека и гемотрансфузионные осложнения / Под ред. М. А. Умновой. М.: Медицина, 1989. С. 27.
15. Чаленко В. В., Кутушев Ф. Х. Эндогенная интоксикация в хирургии // Вестник хирургии. 1990. № 4. С. 3–8.
16. Шарыгин С. Л. Препараты внутривенных иммуноглобулинов из донорской плазмы для терапии бактериальных и вирусных инфекций (получение и клиническое применение): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 1997. 41 с.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АТТЕНУАЦИИ ХОЛОДОАДАПТИРОВАННЫХ ВИРУСОВ ГРИППА

КИСЕЛЕВА И. В., ЛАРИОНОВА Н. В., ГРИГОРЬЕВА Е. П., РУДЕНКО Л. Г.

ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН»,
Санкт-Петербург

Киселева И. В., Ларионова Н. В., Григорьева Е. П., Руденко Л. Г. Генетические основы аттенуации холодоадаптированных вирусов гриппа // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 15–27. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

В представленном обзоре проведен сравнительный анализ литературных данных и результатов собственных исследований роли отдельных мутантных генов в аттенуации холодоадаптированных реассортантных вакцинных штаммов для живой гриппозной вакцины. Продемонстрирована универсальная роль генов полимеразного комплекса в аттенуации вирусов гриппа как типа А, так и типа В.

Ключевые слова: вирус гриппа, мутантные гены, температурочувствительность, холодоадаптированность, аттенуация.

Kiseleva I. V., Larionova N. V., Grigorieva E. P. and Rudenko L. G. Genetic basis of the attenuation of cold-adapted influenza viruses // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 3. P. 15–27. Research Institute of Experimental Medicine of the RAMS, St. Petersburg, 197376.

In this review our own results and published data of contribution of single mutant genes in attenuation of live reassortant cold-adapted influenza vaccine were summarized. The critical role of genes coding for polymerase genes of A and B influenza viruses in attenuation was demonstrated.

Key words: influenza virus, mutant genes, temperature sensitivity, cold-adaptation, attenuation.

Массовый характер эпидемий гриппа, резкое повышение смертности от ОРЗ (особенно среди детей и стариков), тяжелые осложнения – все эти причины определяют социально-экономическое значение эпидемий гриппа и актуальность разработки средств противогриппозной защиты. Вакцинопрофилактика и по сей день остается основным средством борьбы с гриппом. Живые гриппозные вакцины разрабатываются как у нас в стране, так и за рубежом [34]. Основу современной живой гриппозной вакцины составляют аттенуированные температурочувствительные [45, 47] и холодоадаптированные [57] вакцинные штаммы, т. е. штаммы, адаптированные к репродукции при пониженной температуре – температуре верхних дыхательных путей. Вакцинный вирус гриппа размножается в слизистой оболочке дыхательных путей, не проникая в нижние отделы респираторного тракта. До 70-х гг. живую гриппозную вакцину готовили методом последовательных пассажей в развивающихся куриных эмбрионах, используя пастеровский принцип переадаптации возбудителя к чужеродной системе. Однако этот метод является эмпирическим и непредсказуемым.

В 1976 г. Palese и Shulman [56] открыли исключительно важное свойство генома вируса гриппа – его фрагментированность. Это уникальное свойство вируса гриппа позволило совершить настоящую революцию в области подготовки вакцинных штаммов.

Благодаря этому была установлена возможность реассортации генов генетически удаленных друг от друга штаммов – актуальных эпидемических штаммов с безвредными для людей вирусами устаревшей антигенной структуры, так называемыми донорами аттенуации. Метод генетической реассортации с 1965 г. последовательно и успешно использовался в России Г. И. Александровой [10, 12, 57, 58], ею же были созданы и доноры аттенуации для отечественной живой гриппозной вакцины – А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) [2], А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) [3] и В/СССР/60/69 [1]. В 1967 г. аналогичные работы были начаты в США [39] на основе доноров аттенуации А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) [40] и В/Энн Арбор/1/66са [40].

Вакцинный штамм современной живой гриппозной вакцины представляет собой реассортантный вирус, унаследовавший от эпидемического («дикого») родителя 2 гена, кодирующих поверхностные белки гемагглютинин (НА) и нейраминидазу (НА) и определяющих антигенную актуальность вакцинного штамма, а от безвредного для человека холодоадаптированного донора аттенуации – 6 внутренних генов: гены нуклеопротеидного комплекса (PB2, PB1, PA, NP), М-ген, кодирующий мембранный белок, и NS-ген, кодирующий неструктурный белок (так называемая формула генома 6:2) (рис. 1).

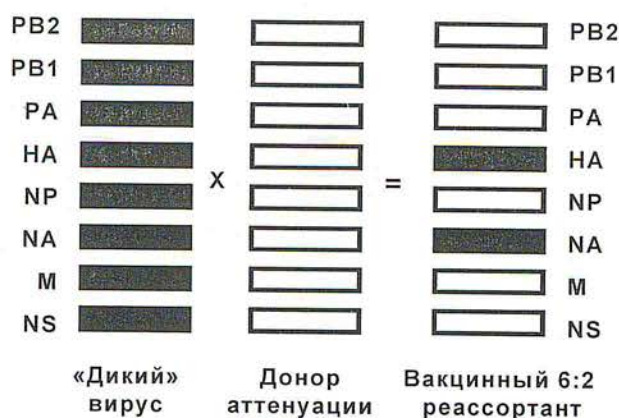


Рис. 1. Схема подготовки реассортантного штамма для живой гриппозной вакцины.

По оси абсцисс – скрещиваемые родительские вирусы (современный вирус «дикого» типа и холодоадаптированный донор аттенуации) и реассортантный вакцинный штамм, по оси ординат – гены вируса гриппа

Одновременно с началом активной разработки живых реассортантных гриппозных вакцин встал вопрос о механизмах их аттенуации для человека. В настоящей работе мы обобщили материал о роли генов вируса гриппа в процессе аттенуации, который в настоящее время имеется в научной литературе, и результаты собственных наблюдений. Под аттенуацией мы подразумеваем весь комплекс фенотипических свойств (признаков), которые характерны для холодоадаптированных аттенуированных вирусов, а именно: температурочувствительность (неспособность к репродукции при повышенной температуре инкубации, *ts*-фенотип), холодоадаптированность (способность к репродукции при пониженной температуре, *ca*-фенотип) и апатогенность для экспериментальных животных (*att*-фенотип).

ХОЛОДОАДАПТИРОВАННЫЕ ВИРУСЫ ГРИППА А

Донор аттенуации А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) был подготовлен методом холодовой адаптации из вируса «дикого» типа А/Энн Арбор/6/60 (H2N2), антигенно подобного родоначальнику «азиатского» пандемического цикла – вирусу А/Сингапур/1/57 (H2N2), путем пассажей в первичной культуре почки эмбриона кур (СЕК) при постепенно снижаемой от 33 °С до 25 °С температуре инкубации [39]. Секвенирование шести внутренних генов этого донора выявило в них 11 значащих замен, приводящих к аминокислотным заменам в белках PB2 (Asn-265-Ser), PB1 (Lys-391-Glu, Glu-457-Asp, Glu-581-Gly, Ala-661-Thr), PA (Lys-613-Glu, Leu-715-Pro), NP (Thr-23-Asn, Asp-34-Gly), M2 (Ala-86-Ser) и NS1 (Ala-153-Thr) [15]. В опубликованном в 2003 г. сиквенсе холодоадаптированного вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2), сконструированного генно-

инженерным путем, отсутствует одна из двух мутаций в NP-гене (Thr-23-Asn) [29]. А в работе [27] количество значащих мутаций во внутренних генах донора аттенуации А/Энн Арбор/6/60са сведено до семи, при этом авторы не обнаружили мутационных изменений в генах PA, M и NS.

Донор аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) также был получен из сингапуроподобного «азиатского» вируса А/Ленинград/134/57 (H2N2) после 21 пассажа в развивающихся куриных эмбрионах при 32 °С и последующих 17 пассажей при температуре инкубации, пониженной до 25 °С [2]. Вирус А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) прошел 30 дополнительных пассажей при 25 °С [3]. До последнего времени в России реассортантные вакцинные штаммы живой гриппозной вакцины для детей и для взрослых готовили на двух донорах аттенуации: вакцинные штаммы для взрослых – на доноре А/Ленинград/134/17/57 (H2N2), а вакцинные штаммы для детей – на более аттенуированном доноре А/Ленинград/134/47/57 (H2N2). В 2003 г. Комитет медицинских иммунобиологических препаратов счел целесообразным рекомендовать применение единой живой гриппозной вакцины, приготовленной на «взрослом» доноре А/Ленинград/134/17/57 (H2N2), для иммунизации всех возрастных групп населения, начиная с детей в возрасте 3–6 лет, с внесением соответствующих изменений в «Инструкцию по применению препарата» [6].

Нуклеотидная последовательность внутренних генов «дикого» вируса А/Ленинград/134/57 (H2N2) и его холодоадаптированных вариантов – А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) и А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) – полностью расшифрована. Известно, что А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) отличается от своего «дикого» предшественника наличием 8 кодирующих мутаций во внутренних генах PB2 (Val-478-Leu), PB1 (Lys-265-Asn, Val-591-Ile), PA (Leu-28-Pro, Val-341-Leu), M1 (Ile-15-Val), M2 (Ala-86-Thr) и NS2 (Met-100-Ile). А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) по сравнению с А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) имеет 3 дополнительные мутации в генах PB2 (Ser-490-Arg), PB1 (Met-317-Ile), NP (Leu-341-Ile) [37].

Несмотря на расшифровку первичной структуры генов, кодирующих внутренние белки донорских штаммов А (H2N2), у исследователей не существовало единой концепции молекулярных механизмов аттенуации холодоадаптированных вирусов гриппа (табл. 1).

Роль NS-гена в аттенуации. Мнения авторов о роли NS-гена в формировании аттенуирующего фенотипа вируса гриппа расходятся от полного отрицания [61] до придания ему важного [9] и даже решающего [54] значения (табл. 1). Однако в большей части работ, посвященных NS-гену, авторы не

Роль отдельных мутантных генов в аттенуации холодоадаптированных вирусов гриппа А (H2N2) на модели одногенных реассортантов между генетически удаленными родительскими вирусами

Ген	ca-фенотип	ts-фенотип	att-фенотип
PB2	ca [49, 52], non-ca [61]	non-ts [49, 52], ts [26, 35, 61, 65, 67]	att [61, 65]
PB1	ca [49], non-ca [9, 61]	ts [26, 35, 61, 67], non-ts [9, 49]	att [61], non-att [9, 25]
PA	ca [49, 61]	ts [67], non-ts [35, 61]	att [61], non-att [61]
NP	non-ca [61]	ts [67], non-ts [61]	non-att [61]
M	non-ca [61]	non-ts [35, 61]	att [61], non-att [64]
NS	non-ca [9, 61]	ts [19], non-ts [9, 35, 61]	att [9], non-att [33, 46, 48, 61]

отводят ему сколько-нибудь серьезной роли в формировании аттенуирующего фенотипа вируса гриппа. Так, на модели одногенного по NS-гену реассортанта между холодоадаптированным вирусом А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и эпидемическим вирусом А/Корея/1/82 (H3N2) было показано, что он проявлял *non-ts*, *non-ca*- и *non-att*-фенотипы [61].

На основании изучения реассортантов между холодоадаптированным донором А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и эпидемическими вирусами А/Нью Джерси/76 (Hsw1N1) и А/Шотландия/840/74 (H3N2) Kendal с соавт. [33] полагают, что в структуре NS-гена холодоадаптированного вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) не присутствуют биологически важные для проявления *att*-фенотипа *ts*-повреждения.

Проанализировав 5:3 реассортанты между холодоадаптированным вирусом А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и «дикими» вирусами А/Аляска/6/77 (H3N2), А/Виктория/3/75 (H3N2), А/Гонконг/123/77 (H3N2), А/Шотландия/840/74 (H3N2), Murphy с соавт. [46] также пришли к выводу, что холодоадаптированный реассортантный вирус может без риска для потери температурочувствительности и холодоадаптированности наследовать NS от любого родителя – как от холодоадаптированного донора аттенуации, так и от вируса «дикого» типа, другими словами, авторы не считают, что NS-ген может играть какую-то важную роль в аттенуации.

В наших экспериментах на модели двух одногенных по NS-гену реассортантов между «диким» вирусом А/Панама/2007/99 (H3N2) и холодоадаптированным штаммом А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) было показано, что замена в геноме донора аттенуации мутантного NS-гена на «дикий» ген (формула генома 7:1), так же как и включение в состав «дикого» вируса мутантного NS-гена от холодоадаптированного родителя (формула генома 1:7), не оказывала существенного влияния на манифестацию *ts*-фенотипа реассортанта. Реассортанты проявляли фенотип, присущий вирусу, передавшему в геном реассортанта семь генов: 1:7 реассортант 47/235 сохранил *non-ts*-фенотип, характерный для его «дикого» родителя, а 7:1 реассортант 47/237 сохранил *ts*-фенотип донора

аттенуации. Три других 1:7 реассортанта между патогенным для мышей вирусом А/Аичи/2/68 (H3N2) и донором аттенуации А/Ленинград/134/47/57 (H2N2), одногенных по NS-гену (47/В, 47/Е и 47/Ф), проявляли патогенность для мышей и *non-ts*- и *non-ca*-фенотипы, присущие «дикому» родителю А/Аичи/1/68 (H3N2). Таким образом, в наших опытах перенос одного только NS-гена от холодоадаптированного вируса А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) в геном эпидемического вируса не приводил к его аттенуации, что не позволяет сделать вывод об ответственности этого гена за аттенуацию вируса гриппа.

С другой стороны, имеется работа, продемонстрировавшая определенную роль NS-гена в аттенуации холодоадаптированного штамма А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) для мышей [9]. При этом одногенные по NS-гену реассортанты между А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) и высокопатогенным для животных штаммом А/PR/8/34 (H1N1), приобретая определенный уровень аттенуации для мышей, сохраняли *non-ts*- и *non-ca*-фенотип «дикого» родителя.

Наиболее решительно в пользу важной роли NS-гена в процессах аттенуации вируса гриппа высказываются Palese с соавт. [54]. Опираясь на данные о том, что основная функция NS1-белка, кодируемого вирусом гриппа, заключается в противодействии активации системы интерферона [20, 22, 24], авторы полагают, что молекулярные основы аттенуации вируса гриппа во многом определяются именно строением и функционированием NS1-гена. Baskin С. R. с соавт. [13] продемонстрировали аттенуацию для макака вируса гриппа А/Техас/36/91 (H1N1) с делецией 126 аминокислот в его NS1-гене. Последними исследованиями в этом направлении установлена полная аттенуация патогенного для птиц вируса гриппа А (H5N1) в результате делеции в его NS1-гене [цит. по 24]. Авторы рассматривают «дикий» вирус гриппа, аттенуированный в результате такой делеции, в качестве альтернативы современной живой гриппозной реассортантной вакцины. Однако остается открытым вопрос, сохраняются ли аттенуирующие свойства подобного вакцинного штамма в случае его случайной

реассортации с другим вирусом гриппа, несущим полноценный NS-ген.

Роль М-гена в аттенуации. По существу роль мутантного М-гена в процессах аттенуации холодоадаптированных вирусов была серьезно изучена в двух работах [61, 64]. На модели одногенного по М-гену реассортанта между холодоадаптированным вирусом А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и эпидемическим вирусом А/Корея/1/82 (H3N2) было показано, что он проявлял *non-ts*- и *non-ca*-фенотип, но был значительно ограничен в репродукции в организме хорьков и хомяков [61]. Известно, что М2-ген холодоадаптированного вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) имеет мутацию в позиции нуклеотида 969, приводящую к аминокислотной замене Ala-86-Ser [15]. Для выяснения вопроса, связано ли это ограничение именно с мутацией или с общей констелляцией генов, Subbarao с соавт. [64] получили одногенные по М-гену реассортанты между «диким» вирусом А/Энн Арбор/6/60са (H2N2), у которого нет этой мутации, и вирусом А/Корея/1/82 (H3N2). Было показано, что не только М-одногенный реассортант с мутантным М-геном, но и М-одногенный реассортант с М-геном от «дикого» вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) проявляли снижение репродукции в легких мышей. Затем авторы поставили перед собой другой вопрос, проявится ли подобный эффект, если заменить «дикий» М-ген на мутантный ген холодоадаптированного вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) в геноме другого эпидемического вируса – А/Удорн/72 (H3N2). Оказалось, что в этом случае М-одногенный реассортант размножался в организме мышей так же, как и его «дикий» родитель. Полученные результаты позволили авторам сделать вывод о том, что в данном случае ведущую роль в аттенуации одногенных по М-гену реассортантов играет именно констелляция генов.

Odagiri с соавт. [51] также показали, что *ts*-фенотип реассортантов между вирусом «дикого» типа А/Энн Арбор/1/80 (H3N2) и А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) не связаны со свойствами М-гена. Аналогичные данные получены и на модели М-одногенных реассортантов между холодоадаптированным вирусом А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) и эпидемическим вирусом А/Ленинград/360/85 (H3N2) [9]. Замена в геноме эпидемического вируса М-гена на ген от холодоадаптированного донора не изменила его *non-ts*- и *non-ca*-фенотип.

Kendal с соавт. [33], однако, полагают, что М-ген холодоадаптированного вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) может хотя бы частично отвечать за холодоадаптацию и температурочувствительность реассортантов между холодоадаптированным А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и эпидемическими вирусами А/Нью Джерси/76 (Hsw1N1) и А/Шотландия/840/74

(H3N2). Жилинская с соавт. [5] также предполагают важную роль М-гена в аттенуации вируса гриппа.

М-одногенные реассортанты между вирусом гриппа птиц А/утка/Нью Йорк/6750/78 (H2N2), использованным в качестве донора аттенуированных генов, и вирусом гриппа человеческого происхождения А/Удорн/307/72 (H3N2) были ограничены в репродукции в респираторном тракте белых обезьян [44]. Аналогичные реассортанты между вирусом А/Удорн/307/72 (H3N2) и другим птичьим вирусом А/шилохвост/Альберта/119/79 (H4N6), однако, не были аттенуированы для экспериментальных животных. Секвенирование М-гена вирусов А/утка/Нью Йорк/6750/78 (H2N2) и А/шилохвост/Альберта/119/79 (H4N6) показало, что эти вирусы отличаются только на одну аминокислоту в М1- и на одну – в М2-белке. Авторы полагают, что эти различия и являются молекулярной основой аттенуации М-одногенных реассортантов, полученных на основе вируса А/утка/Нью Йорк/6750/78 (H2N2).

Clements с соавт. [14] изучали способность к репликации в респираторном тракте волонтеров шести одногенных реассортантов между вирусом гриппа птиц А/утка/Нью Йорк/6750/78 (H2N2) и эпидемическим вирусом А/Лос Анжелес/2/87 (H3N2). Реассортанты, одногенные по генам NS, М, PB2 и PB1, были ограничены в репродукции в дыхательном тракте людей по сравнению с вирусом «дикого» типа А/Лос Анжелес/2/87 (H3N2). В наблюдениях же на обезьянах только NP-, PB2- и, возможно, М-ген отвечали за аттенуирующий фенотип реассортантов. Эти противоречивые, в частности, в отношении NP-гена результаты показали, что не все генетические детерминанты аттенуации вируса гриппа А для человека могут быть определены, используя в качестве модели обезьян.

Роль NP-гена в аттенуации. Из результатов, полученных Snyder с соавт. [61], следует, что NP-ген холодоадаптированного вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) не играет существенной роли в проявлении ни *ca*-, ни *ts*-, ни *att*-фенотипа. Одногенные по NP-гену реассортанты между холодоадаптированным вирусом А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и А/Корея/1/88 (H3N2) проявляли в экспериментах *in vitro* и *in vivo* соответственно *non-ca*-, *non-ts*- и *non-att*-фенотип. Интересно, что такой же NP-одногенный реассортант между А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и А/Корея/1/88 (H3N2) у Whitaker-Dowling с соавт. [67] проявлял *ts*-фенотип. Материалы, полученные Snyder с соавт. [61], в какой-то степени согласуются с данными об аттенуации отечественного донора А/Ленинград/134/17/57 (H2N2). Несмотря на то, что в составе его генома NP-ген представлен немутированным фрагментом РНК [35, 37, 38], холодоадаптированный вирус А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) проявляет вы-

сокую степень аттенуации для широкого круга экспериментальных моделей и человека [1].

Роль PA-гена в аттенуации. Snyder с соавт. [61] установили, что PA-ген холодоадаптированного вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) не играет существенной роли в проявлении *ts*-фенотипа, однако ответственен за *ca*- и *att*-фенотип. Одногисные по PA-гену реассортанты между холодоадаптированным вирусом А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и А/Корея/1/88 (H3N2) проявляли *ca*-, *non-ts*- и *att*-фенотип. Противоположные результаты на той же модели были получены Whitaker-Dowling с соавт. [67]. В их постановке опыта PA-одногенный реассортант между А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и А/Корея/1/88 (H3N2) был температурочувствительным.

Егоров с соавт. [4] показали, что включение в состав генома 6:2 реассортанта между донором аттенуации А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) и «диким» вирусом А/PR/8/34 (H1N1) дополнительного PA-гена от вируса «дикого» типа не приводило к усилению его вирулентности.

Роль PB1-гена в аттенуации. Данные, имеющиеся в литературе по этому вопросу, достаточно противоречивы. У разных авторов на различных экспериментальных моделях одногенные по PB1-гену реассортанты проявляли *ts*-фенотип, *non-ts*-фенотип, *ca*-фенотип, *non-ca*-фенотип, *att*-фенотип и *non-att*-фенотип (табл. 1). Так, изучение *ts*- и *ca*-свойств четырех одногенных по PB1-гену реассортантов между холодоадаптированным донором А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) и вирусом «дикого» типа А/PR/8/34 (H1N1) показало, что ни один из четырех PB1-одногенных реассортантов не обладал *ca*-, *ts*- или *att*-фенотипами [9]. Авторы предполагают, что сам по себе мутантный PB1-ген от донора А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) не способен перенести в геном вируса А/PR/8/34 (H1N1) признак авирулентности, т. е. что эти гены сами по себе, по-видимому, не обеспечивают холодоустойчивости и температурочувствительности холодоадаптированного вируса А/Ленинград/134/47/57 (H2N2).

PB1-одногенный реассортант между А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и А/Корея/1/82 (H3N2) не обладал *ca*-фенотипом [61], но приобрел температурочувствительность [26, 61, 67] и аттенуацию для хорьков и хомяков [61]. PB1-одногенный реассортант между А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и А/Аляска/6/77 (H3N2), наоборот, приобрел *ca*-фенотип, потеряв при этом *ts*-фенотип [49] и аттенуацию для мышей [50], хорьков и хомяков [25].

Роль PB2-гена в аттенуации. В литературе высказываются разные мнения по вопросу о *ts*- и *ca*-свойствах, присущих мутантному PB2-гену. Так, PB2-одногенный реассортант между А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и А/Аляска/6/77 (H3N2) обладал холодоадаптированным, но *non-ts*-фенотипом

[49, 52]. PB2-одногенный реассортант между А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и А/Корея/1/82 (H3N2) уже не обладал *ca*-фенотипом [61], но приобрел температурочувствительность [61, 65, 67]. В отношении же аттенуирующих свойств мутантного PB2-гена авторы были единодушны: PB2-одногенные реассортанты между А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и А/Корея/1/82 (H3N2) во всех экспериментальных моделях – мыши [65], хорьки [61] и хомяки [61] – проявляли выраженный *att*-фенотип. Kelly и Subbarao [31] методами обратной генетики продемонстрировали, что точечная мутация в PB2-гене донора аттенуации А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) приводит к манифестации его *ts*- и *att*-фенотипа.

Замена в геноме температурочувствительного и аттенуированного для мышей 6:2 реассортанта между донором аттенуации А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) и вирусом А/PR/8/34 (H1N1) мутантного PB2-гена на немутантный ген от «дикого» вируса А/Ленинград/134/57 (H2N2) привела к усилению пневмотропности вируса, не затронув, однако, его *ts*-фенотипа [21]. Авторы также обсуждают роль PB2-гена в экспрессии аттенуирующего фенотипа холодоадаптированного донора аттенуации А/Ленинград/134/47/57 (H2N2).

По нашим данным, 1:7 PB2-одногенные реассортанты между «диким» вирусом А/Панама/2007/99 (H5N2) и холодоадаптированным вирусом А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) заимствовали от донора его *ts*-фенотип – репродукционная активность при повышенной до 40 °С температуре инкубации реассортантов 47/226 и 47/L12 была ниже на 7–8 lg ЭИД₅₀/мл по сравнению с «диким» вирусом. К сожалению, сам родительский вирус А/Панама/2007/99 оказался способным к достаточно активной репродукции при 25 °С, поэтому невозможно оценить вклад отдельных мутантных генов в реализацию *ca*-фенотипа реассортантов, полученных на его основе. Включение же мутантного PB2-гена от холодоадаптированного родителя в геном другого эпидемического вируса – А/Сидней/5/97 (H3N2) – не повлияло на *ts*-фенотип реассортанта С/9, который так же активно репродуцировался в куриных эмбрионах при повышенной до 40 °С температуре инкубации, как и его «дикий» родитель, и обладал сниженной способностью к репродукции при 25 °С.

Таким образом, сравнительное изучение фенотипических характеристик одногенных по PB2-гену реассортантов, полученных на основе холодоадаптированного донора А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) и двух эпидемических вирусов А/Панама/2007/99 (H3N2) и А/Сидней/5/97 (H3N2), показало, что в зависимости от донора «диких» генов одногенные по PB2 реассортанты приобретают различный уровень чувствительности к повышенной температуре инкубации.

Роль комбинаций внутренних генов в аттенуации. В 1985 г. Snyder с соавт. [63], при попытке получить одногенные реассортанты между вирусом «дикого» типа А/Вашингтон/897/80 (H3N2) и холодоадаптированного А/Энн Арбор/6/60са (H2N2), изолировали два так называемых двугенных реассортанта, унаследовавших от донора аттенуации одновременно PA- и M-гены. Полученные реассортанты проявляли в культуре клеток СЕК *ca*- и *ts*-фенотип и были аттенуированы для хорьков и людей. Авторы делают заключение о том, что ведущую роль в аттенуации холодоадаптированных реассортантных вирусов играет именно PA-ген.

Через два года эти авторы [62] провели исследования с тем же «диким» вирусом А/Вашингтон/897/80 (H3N2), но в качестве донора аттенуированных генов ими был взят вирус гриппа птиц А/шилохвост/Альберта/119/79 (H4N6). При скрещивании этих вирусов были получены 24 реассортантных вируса с разным набором генов от вируса гриппа птиц А/шилохвост/Альберта/119/79 (H4N6) и А/Вашингтон/897/80 (H3N2). Изучение их инфекционной активности проводили в клетках млекопитающих (MDCK) и культуре птичьего происхождения (СЕК). Было показано, что различная констелляция генов полимеразного комплекса приводила к 900 («человеческие» PB2 + PA и «птичий» PB1) – 80 000 («птичьих» PB2 + PB1 и «человеческий» PA) -кратному снижению инфекционного титра реассортантных вирусов. Кроме того, был изучен уровень репликации пятнадцати реассортантов в респираторном тракте беличьих обезьян. Репродукция реассортантов, несущих в составе своего генома NP-ген птичьего происхождения, была сопоставима с таковой 6/2 реассортантных вирусов. Это позволило авторам сделать вывод о том, что в аттенуации для беличьих обезьян реассортантов между А/шилохвост/Альберта/119/79 (H4N6) и А/Вашингтон/897/80 (H3N2) значительную роль играет NP-ген. Кроме того, было показано, что реассортанты, несущие в составе своего генома («человеческие» PB2 + PA и «птичий» PB1) полимеразные гены, высоко аттенуированы для беличьих обезьян.

Констелляция в геноме реассортантов между А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) и А/Аляска/6/77 (H3N2) двух полимеразных генов от холодоадаптированного родителя PB2 + PB1 приводила к экспрессии *ts*- и *ca*-фенотипа [49].

Massicot с соавт. [42] на модели реассортантов между другими вирусами гриппа приходят к такому же заключению. Авторы считают, что одновременное включение генов PB2+PB1 температурочувствительного штамма А/Удорн/72-*ts*-1A2 (H3N2) в геном вируса «дикого» типа А/Виктория/3/75 (H3N2) приводит к наиболее выраженному *ts*-фенотипу и аттенуации реассортантных вирусов для хомяков. При этом авторы полагают, что присутствие PA-гена от

донора мутантных генов не требуется для формирования *ts*-фенотипа.

С другой стороны, замена в геноме холодоадаптированного вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) только одного PB1-гена на ген от «дикого» вируса приводила к потере реассортантом холодоустойчивости [16]. Авторы обсуждают вопрос о роли комплекса генов PB2 + PA + NP в проявлении *ca*-фенотипа вируса гриппа.

Мы проанализировали *ts*-фенотип 176 реассортантов между донором А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) и современными эпидемическими вирусами, содержащих в составе генома от 2 до 6 генов от холодоадаптированного родителя. Было показано, что включение в геном таких реассортантов PB2-гена от холодоадаптированного донора аттенуации в комплексе с его любым другим полимеразным геном (PB1 и/или PA) регулярно приводило к приобретению вирусом *ts*-фенотипа [35]. Включение в геном реассортантного вируса PB2-гена от эпидемического родителя приводило к потере температурочувствительности.

Несмотря на то, что одногенные по PB1- и NS-гену реассортанты между холодоадаптированным донором А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) и «диким» вирусом А/PR/8/34 (H1N1) обладали *non-ts*- и *non-ca*-фенотипом «дикого» родителя, было установлено, что синергизм генов PB1 + NS холодоадаптированного донора способен обеспечить *ts*- (но не *ca*-) фенотип реассортантных штаммов [9].

При изучении вируса А/PR/8/34 (H1N1) как донора внутренних генов для подготовки реассортантных вакцинных штаммов было установлено, что для аттенуации реассортантов вируса А/PR/8/34 (H1N1) необходима пересортировка генов PB2, PB1 и PA, ведущая к рассогласованию функций полимеразных генов в геноме реассортантов [46]. Все отобранные опытным путем апатогенные реассортанты имели в своем составе гены PB2+PA от вируса А/PR/8/34 (H1N1), а PB1-ген – от вирулентного родителя. Реассортанты же, унаследовавшие от вируса А/PR/8/34 (H1N1) шесть генов внутренних белков (включая все гены, кодирующие полимеразные белки), оказались вирулентными для человека. В связи с этим было выдвинуто предположение о том, что аттенуация штамма А/PR/8/34 (H1N1) обусловлена мутацией, локализованной в гене гемагглютинина. Замена же в процессе рекомбинации дефектного гемагглютинина вируса А/PR/8/34 (H1N1) на гемагглютинин актуального эпидемического штамма приводит к тому, что устраняются препятствия для реализации вирулентных потенциалов этого вируса, ассоциированных с генами, кодирующими негликозилированные белки.

В представленных выше работах роль отдельных генов в экспрессии аттенуирующего фенотипа холо-

доадаптированных штаммов вируса гриппа А изучали на модели реассортантов между генетически удаленными штаммами. Это было связано с тем, что большая часть этих исследований приходилась на 80-е гг., когда для анализа генома реассортантов еще не использовались такие высокочувствительные методы, как секвенирование и ПЦР-рестрикционный метод. Применяемый в то время в вирусологической практике электрофорез в ПААГ однопочечных [66] или двупочечных [8] РНК позволял различить фрагменты генома только генетически удаленных вирусов гриппа, поскольку они значительно отличались по своей электрофоретической подвижности. Обнаружить же уникальную точечную мутацию в исследуемом гене невозможно без секвенирования или ПЦР-рестрикционного метода. Поэтому при существующем уровне исследований не было возможности дифференцировать ген вируса «дикого» типа от гена его холодоадаптированного варианта.

ПЦР-рестрикционный метод был описан для отечественных доноров только в 1995 г. [36] и дополнен нами в 2002 г. [7], позднее подобный метод был разработан для американского донора аттенуации А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) [60], а для вируса А/PR/8/34 (H1N1), который используется как донор внутренних генов в производстве реассортантной инактивированной гриппозной вакцины, первые публикации появились в 2000 г. [53]. Становится понятным, что имеющиеся разночтения в результатах могли во многом определяться именно влиянием чужеродных генов, которые окружали единичный мутантный ген в геноме одногенного реассортанта (иными словами, констелляцией генов).

Таким образом, в связи с отсутствием адекватного метода дифференцировки мутантных и немутантных генов вопрос о влиянии отдельных генов на аттенуацию холодоадаптированных вирусов оставался до последнего времени открытым. Изучение одногенных реассортантов между генетически удаленными родительскими вирусами, на которое многие исследователи возлагали большие надежды, оказалось недостаточно информативным. Слишком

много неучтенных факторов влияет на формирование фенотипа одногенного реассортанта: генетическая удаленность родительских вирусов, *ts*- и *ca*-фенотип «дикого» родителя, уровень его патогенности для животных, рассогласование констелляции генов и многое другое. У исследователей, изучавших закономерности аттенуации вируса гриппа в процессе рекомбинации двух отличающихся по вирулентности штаммов, не сложилось общей точки зрения на функциональную роль отдельных генов холодоадаптированных вирусов гриппа в аттенуации. К единому мнению авторы пришли только по трем вопросам: (а) во всех изученных моделях мутантный PB2-ген проявлял ответственность за манифестацию аттенуирующего фенотипа [21, 31, 61, 65]; (б) одногенные по NS-гену реассортанты не приобретали *ca*-фенотип от своего холодоадаптированного родителя [9, 61]; (в) PA-одногенные реассортанты обладали выраженным *ca*-фенотипом [49, 61] (табл. 1).

Современные представления о роли отдельных мутантных генов в аттенуации вируса гриппа А. В 2001 г. вышла наша работа, в которой впервые роль отдельных мутаций в аттенуации холодоадаптированных вирусов гриппа А изучали на модели не одногенных реассортантов между генетически удаленными родительскими вирусами, а полученных методами классической реассортации в куриных эмбрионах одно- и полигенных мутантов – реассортантов, унаследовавших различный набор внутренних генов от оригинального вируса «дикого» типа А/Ленинград/134/57 (H2N2) и его холодоадаптированного варианта А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) [38]. Таким образом авторам удалось исключить возможное влияние чужеродных генов на биологические свойства изучаемых реассортантных вирусов. На модели одногенных мутантов было установлено, что мутации в генах полимеразного комплекса играют решающую роль в аттенуации холодоадаптированного вируса А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) (табл. 2). Замена Val-478-Leu в PB2-гене, так же как замены Lys-265-Asn и Val-591-Ile в PB1-гене, независимо друг от друга приводят к формированию *ts*-фенотипа. Мутации

Таблица 2

Роль отдельных мутантных генов в аттенуации холодоадаптированных вирусов гриппа А (H2N2) на модели одногенных реассортантов между «диким» вирусом и его холодоадаптированным мутантом

Ген	Донор аттенуации	
	А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) [38]	А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) [29]
PB2	<i>ts, ca, att</i>	<i>ts, att</i>
PB1	<i>ts, non-ca, att</i>	<i>ts, att</i>
PA	<i>non-ts, ca, non-att</i>	<i>non-ts, non-att</i>
NP	Немутантный ген	<i>ts, att</i>
M	<i>non-ts, non-ca, non-att</i>	<i>non-ts, non-att</i>
NS	<i>non-ts, non-ca, non-att</i>	<i>non-ts, non-att</i>

Leu-28-Pro и Val-341-Leu в PA-гене, так же как мутация Val-478-Leu в PB2-гене, ответственны за проявление *ca*-фенотипа. Очень важно, что следствием замены Val-478-Leu в PB2-гене, как и замены Lys-265-Asn и Val-591-Ile в PB1-гене, является не только формирование *ts*-фенотипа, но и аттенуации соответствующих одногенных мутантов для хорьков. С другой стороны, хотя мутации в PA-гене и ответственны за проявление *ca*-фенотипа, они не приводят к манифестации *att*-фенотипа у соответствующих одногенных мутантов. Эти результаты позволили предположить наличие более тесной связи между аттенуацией и *ts*-фенотипом, чем между аттенуацией и *ca*-фенотипом холодоадаптированных вирусов. Несмотря на то, что в процессе холодовой адаптации вирус А/Ленинград/134/57 (H2N2) приобрел мутации не только в генах полимеразного комплекса, но и в генах, кодирующих мембранный (M) и неструктурные (NS) белки, не было выявлено их видимого влияния на аттенуацию холодоадаптированного вируса А/Ленинград/134/17/57 (H2N2).

Выяснение генетической основы *ts*-фенотипа холодоадаптированного вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) проводили с помощью методов обратной генетики [29]. В результате направленного мутагенеза был получен ряд рекомбинантных вирусов на основе донора аттенуации А/Энн Арбор/6/60са (H2N2), в состав генома которого были включены отдельные гены от его «дикого» предшественника. Изучение вклада отдельных мутаций вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) в аттенуацию подготовленных на его основе вакцинных штаммов живой гриппозной вакцины FluMist продемонстрировало ведущую роль PB2-, PB1- и NP-генов в формировании температурочувствительного фенотипа (табл. 2). Интересно, что авторы изучали только *ts*-фенотип реассортантных вирусов, видимо справедливо полагая, что *ca*-фенотип не оказывает существенного влияния на аттенуирующие свойства вирусов.

Комбинация в геноме реассортантов трех мутантных генов от донора аттенуации А/Энн Арбор/6/60са (H2N2), ответственных за проявление *ts*-фенотипа (PB2 + PB1 + NP), приводила к статистически достоверному усилению температурочувствительности, сравнимому с уровнем температурочувствительности самого донора аттенуации [29]. Аналогичные результаты были продемонстрированы и в работе [38]. В этом случае для достижения уровня температурочувствительности, сопоставимого с *ts*-фенотипом холодоадаптированного вируса А/Ленинград/134/17/57 (H2N2), было достаточно включения в состав генома реассортантов двух полимеразных генов от донора аттенуации – PB2 и PB1. Сочетание же полимеразных генов PB2 + PA углубляло *ca*-фенотип реассортантов. Это свидетельствует о том, что в аттенуации

холодоадаптированных штаммов решающее значение имеют не только сами гены полимеразного комплекса, входящие в состав данного индивидуального генома, но и их конstellляция.

Все кодирующие мутации, обнаруженные во внутренних генах холодоадаптированного штамма А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) [15], расположены в позициях, отличных от сайтов мутаций в геноме холодоадаптированного донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) [37]. Не выявлено также совпадений по локализации мутаций и в геноме экспериментального холодоадаптированного донора А/Сингапур/1/57са (H2N2), подготовленного в культуре клеток Vero на основе возбудителя «азиатского» гриппа А/Сингапур/1/57 (H2N2) [59]. Это указывает на то, что не существует каких-либо фиксированных позиций в геноме холодоадаптированных штаммов, мутации в которых (и только в которых) должны приводить к аттенуации. В процессе холодовой адаптации различных вирусов гриппа в их геноме появляются мутации, часть из которых приводит к одинаковому эффекту – аттенуации. Важно, что мишенью для таких мутаций у разных вирусов являются одни и те же полимеразные гены.

С другой стороны, введение в полимеразные гены «дикого» вируса А/PR/8/34 (H1N1) четырех мутаций, обеспечивающих аттенуирующий фенотип холодоадаптированного донора аттенуации А/Энн Арбор/6/60са (H2N2) (в PB2-ген – аминокислотную замену Asn-265-Ser, а в PB1-ген – замены Lys-391-Glu, Glu-581-Gly и Ala-661-Thr), привело к формированию *ts*-фенотипа и аттенуации модифицированного вируса А/PR/8/34 (H1N1) для хорьков [30]. Подобные результаты являются еще одним подтверждением роли мутаций, обнаруженных в генах полимеразного комплекса вируса А/Энн Арбор/6/60са (H2N2), в его аттенуации.

Кроме различий в мутационных сайтах доноров аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) и А/Энн Арбор/6/60са (H2N2), в цитируемых выше работах [29, 38] были использованы разные подходы для получения одногенных мутантов: Klimov с соавт. [38] применяли классический метод реассортации, Jin с соавт. [29] использовали методы обратной генетики. Однако выводы, сделанные Klimov с соавт. [38] и Jin с соавт. [29], практически идентичны (табл. 2), что позволяет предполагать наличие единого механизма аттенуации холодоадаптированных вирусов гриппа А.

ХОЛОДОАДАПТИРОВАННЫЕ ВИРУСЫ ГРИППА В

Для получения донора аттенуации В/Энн Арбор/1/66са вирус «дикого» типа В/Энн Арбор/1/66 пассировали в первичной культуре клеток СЕК, последо-

вательно понижая температуру инкубации с 33 °С до 25 °С до тех пор, пока пассируемый вирус не приобрел свойство холодоадаптированности [17, 41]. Секвенирование шести внутренних генов этого донора выявило в них ряд значащих замен, приводящих к 25 аминокислотным заменам – 4 в белке PB2 (Ser-630–Arg, Arg-78–Gln, Val-269–Ile, Met-183–Ile), 5 в белке PB1 (Ile-651–Val, Arg-433–Lys, His-751–Tyr), 6 в белке PA (Val-431–Met, Tyr-497–His, His-160–Ser, Ser-272–Asn, Ile-495–Met, Asp-590–Glu), 9 в белке NP (Thr-55–Ala, Val-114–Ala, Pro-410–His, Ala-509–Thr, Ile-61–Asp, Asp-535–Glu, Val-534–Ile, Try-129–Phe, Ile-531–Thr), 2 в M1-белке (His-159–Gln, Met-183–Val) и 1 в M2-белке (Gln-64–Lys). Неструктурный NS-белок донора аттенуации В/Энн Арбор/1/66са не имеет кодирующих мутаций [17].

Донор аттенуации В/СССР/60/69 был получен в развивающихся куриных эмбрионах из вируса «дикого» типа после 17 пассажей при 32 °С и последующих 60 пассажей при температуре инкубации, пониженной до 25 °С [1, 11]. Данные секвенирования холодоадаптированного вируса В/СССР/60/69 в открытой печати пока не опубликованы.

Если изучению ведущей роли отдельных мутантных генов в аттенуации холодоадаптированных штаммов вируса гриппа А посвящено значительное количество работ [9, 26, 29, 35, 38, 49, 52, 61, 64, 67 и др.], то до настоящего времени в литературе имеется всего несколько публикаций, касающихся роли мутантных генов холодоадаптированных вирусов гриппа В. При этом исследования были выполнены на модели одногенных только по одному РА-гену реассортантов между холодоадаптированным донором В/Энн Арбор/1/66са и «диким» вирусом В/Хьюстон/1732/76 [18, 19] или «диким» вирусом В/Энн Арбор/1/66 [45]. Авторы установили, что мутантный РА-ген донора аттенуации В/Энн Арбор/1/66са ответственен за проявление его *ts*- и *att*-фенотипа. В 2004 г. в материалах конференции «Influenza Vaccines for the World» появилось краткое сообщение о том, что мутантные РА- и NP-гены донора аттенуации В/Энн Арбор/1/66са ответственны за его температурочувствительность (*ts*-фенотип) [32]. Эти же гены в комбинации с М-геном определяют *att*-фенотип холодоадаптированного вируса В/Энн Арбор/1/66са. Более подробно эти результаты были представлены в работе [28].

Доказано, что температурочувствительность холодоадаптированных штаммов вируса гриппа А тесно связана с их аттенуацией для животных и человека; подобной корреляции между *ca*- и *att*-фенотипом не выявлено [35, 38]. Поэтому при изучении роли мутантных генов в аттенуации холодоадаптированного донора В/СССР/60/69 мы уделили основное внимание свойству температурочувствительности.

Анализ *ts*-фенотипа 32 реассортантов холодоадаптированного донора аттенуации В/СССР/60/69 и пяти различных температурочувствительных вирусов гриппа В «дикого» типа (В/Харбин/07/94, В/Шандонг/07/97, В/Иоганнесбург/05/99, В/Гонконг/330/01 и В/Малайзия/2506/04) показал, что включение в состав генома температурочувствительного эпидемического вируса одного только PB2- или PA-гена донора аттенуации уже приводило к формированию у реассортантов *ts*-фенотипа. Другие мутантные гены (PB1, NP, М, NS), равно как и их комбинации (например, PB1 + NS или PB1 + NP), не оказывали влияния на фенотипические свойства реассортантных вирусов (табл. 3).

Результаты наших клинических наблюдений за серонегативными волонтерами 15–18 лет, привитыми 8 вакцинными штаммами вируса гриппа В с формулой генома 6:2 и штаммом В/60/11, имеющим в своем составе четыре гена от эпидемического вируса (НА, NA, РА и М – формула генома 4:4), показали, что при одинаковом уровне иммуногенности (четырёхкратный и более прирост гуморальных антител после однократной иммунизации колебался в пределах от 50% и выше) реактогенность (наличие температурных реакций в течение первых трех дней после иммунизации) вируса В/60/11 превышала таковую штаммов с формулой генома 6:2 в среднем в 3,5–4 раза. Представленные данные подтверждают важную роль РА-гена в аттенуации вируса гриппа В.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, была установлена универсальная роль генов полимеразного комплекса в аттенуации холодоадаптированных штаммов вируса гриппа. При этом для вирусов гриппа А важная роль принадлежит PB2- и PB1-генам, а для вирусов гриппа В – генам PB2 и PA. Обнаружено уникальное совпадение результатов, полученных при изучении роли отдельных мутантных генов в аттенуации двух холодоадаптированных доноров – А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) [38] и А/Энн Арбор/6/60 (H2N2) [29] (табл. 2).

Совокупность имеющихся в настоящий момент данных позволяет заключить, что в основе молекулярных механизмов аттенуации холодоадаптированных штаммов вируса гриппа лежат множественные мутации в большинстве генов, кодирующих негликозилированные белки. Присутствие в составе реассортантного вакцинного штамма всех внутренних генов от холодоадаптированного донора аттенуации придает ему своеобразный «запас прочности», что является гарантией того, что каким бы ни был новый эпидемический вирус, реассортантная вакцина, приготовленная на его основе, всегда будет высоко аттенуирована для человека.

Роль отдельных мутантных генов в аттенуации холодоадаптированного донора аттенуации В/СССР/60/69 на модели реассортантов генетически удаленных родительских вирусов

Число изученных реассортантов	Гены								Фенотип
	PB2	PB1	PA	HA	NP	NA	M	NS	
Одногенные реассортанты (1 : 7)									
3	60 ¹	wt ²	wt	wt	wt	wt	wt	wt	ts
3	wt	60	wt	wt	wt	wt	wt	wt	non-ts
5	wt	wt	60	wt	wt	wt	wt	wt	ts
6	wt	wt	wt	wt	60	wt	wt	wt	non-ts
1	wt	wt	wt	wt	wt	wt	60	wt	non-ts
1	wt	wt	wt	wt	wt	wt	wt	60	non-ts
Двугенные реассортанты (2 : 6)									
1	wt	wt	60	wt	wt	wt	wt	60	ts
3	wt	60	wt	wt	wt	wt	wt	60	non-ts
Трехгенные реассортанты (3 : 5)									
1	60	wt	60	wt	wt	wt	wt	60	ts
2	60	60	wt	wt	60	wt	wt	wt	ts
1	wt	wt	60	wt	wt	wt	60	60	ts
Четырехгенные реассортанты (4 : 4)									
1	60	wt	60	wt	wt	wt	60	60	ts
Вакцинные штаммы (6 : 2)									
4	60	60	60	wt	60	wt	60	60	ts
Родительские вирусы									
В/СССР/60/69	60	60	60	60	60	60	60	60	ts
Эпидемический вирус	wt	wt	wt	wt	wt	wt	wt	wt	non-ts

Примечание. ¹Ген принадлежит донору аттенуации В/СССР/60/69. ²Ген принадлежит эпидемическому (wild type, wt) родителскому вирусу.

Литература

1. Александрова Г. И., Климов А. И. Живая вакцина против гриппа. СПб.: Наука, 1994. 151 с.
2. Александрова Г. И., Микуцкая Б. А., Сиротенко Е. А. и др. Итоги изучения специального варианта живой гриппозной вакцины для иммунизации детей дошкольного и младшего школьного возраста // Вестник АМН СССР. 1968. № 9. С. 41–45.
3. Гармашова Л. М., Полежаев Ф. И., Александрова Г. И. Холодоадаптированный штамм А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) – специальный донор аттенуации живой гриппозной вакцины для детей и полученные на его основе рекомбинанты // Вопр. вирусол. 1984. № 1. С. 28–31.
4. Егоров А. Ю., Гармашова Л. М., Неведомская Г. Н. и др. Иммуногенность для мышей аттенуированных реассортантов вируса гриппа А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) в зависимости от состава их генома // Вопр. вирусол. 1994. № 5. С. 198–201.
5. Жилинская И. Н., Козлов Ю. В., Курманова А. Г. и др. Изменения в структуре М- и NS-генов в процессе аттенуации вируса гриппа // Доклады АН СССР. 1982. Т. 267. № 5. С. 1240–1243.
6. Инструкция по применению вакцины гриппозной аллантоисной интраназальной живой сухой. Регистрационный номер 003224.01 от 20.09.04. Утверждена Главным санитарным врачом РФ Г. Г. Онищенко 09.11.2005. № 01–11. 209–05.
7. Киселева И. В., Климов А. И. Анализ мутаций в геноме холодоадаптированных штаммов вируса гриппа А с использованием расширенной модификации ПЦР-рестрикционного метода // Вопр. вирусол. 2002. № 6. С. 24–26.
8. Климов А. И., Гендон Ю. З. Электрофорез двухцепочечных РНК вируса гриппа в пластинчатом геле как метод анализа состава генома рекомбинантов // Вирусные инфекции: энтеровирусные, респираторные, арбовирусные. Свердловск, 1979. С. 15–17.
9. Медведева Т. Е., Кудрявцева В. К., Неведомская Г. Н. и др. Роль отдельных генов в проявлении фенотипических свойств холодоадаптированного штамма А/Ленинград/134/47/57 (H2N2) – донора аттенуации живых гриппозных вакцин // Генетика. 1993. Т. 29. № 4. С. 681–691.
10. Alexandrova G. I. Live influenza vaccine in Russia // Proceedings of Options for the Control of Influenza

- III / Eds. by Brown L. E., Hampson A. W., Webster R. G. International Congress Series. Amsterdam: Elsevier Science, 1996. P. 123–128.
11. Alexandrova G. I., Maassab H. F., Kendal A. P. et al. Laboratory properties of cold-adapted influenza B live vaccine strains developed in the US and USSR, and their B/Ann Arbor/1/86 cold-adapted reassortant vaccine candidates // *Vaccine*. 1990. Vol. 8. № 1. P. 61–64.
 12. Alexandrova G. I., Smorodintsev A. A. Obtaining of an additionally attenuated vaccinating cryophilic influenza strain // *Rev. Roum. Inframicrobiol.* 1965. Vol. 2. P. 179–189.
 13. Baskin C. R., Bielefeldt-Ohmann H., Garcia-Sastre A. et al. Functional genomic and serological analysis of the protective immune response resulting from vaccination of macaques with NS1-truncated influenza virus // *J. Virol.* 2007. Vol. 81. № 21. P. 11817–11827.
 14. Clements M. L., Subbarao E. K., Fries L. F. et al. Use of single-gene reassortant viruses to study the role of avian influenza A virus genes in attenuation of wild-type human influenza A virus for squirrel monkeys and adult human volunteers // *J. Clin. Microbiol.* 1992. Vol. 30. № 3. P. 655–662.
 15. Cox N. J., Kitame F., Kendal A. P. et al. Identification of sequence changes in the cold-adapted, live attenuated influenza vaccine strain, A/Ann Arbor/6/60 (H2N2) // *Virology*. 1988. Vol. 167. № 2. P. 554–567.
 16. Cox N. J., Maassab H. F., Kendal A. P. Comparative studies of wild-type and cold-mutant (temperature-sensitive) influenza viruses: nonrandom reassortment of genes during preparation of live virus vaccine candidates by recombination at 25 degrees between recent H3N2 and H1N1 epidemic strains and cold-adapted A/Ann Arbor/6/60 // *Virology*. 1979. Vol. 97. № 1. P. 190–194.
 17. DeBorde D. C., Donabedian A. M., Herlocher M. L. et al. Sequence comparison of wild-type and cold-adapted B/Ann Arbor/1/66 influenza virus genes // *Virology*. 1988. Vol. 163. № 2. P. 429–443.
 18. Donabedian A. M., DeBorde D. C., Cook S. et al. A mutation in the PA protein gene of cold-adapted B/Ann Arbor/1/66 influenza virus associated with reversion of temperature sensitivity and attenuated virulence // *Virology*. 1988. Vol. 163. № 2. P. 444–451.
 19. Donabedian A. M., DeBorde D. C., Maassab H. F. Genetics of cold-adapted B/Ann Arbor/1/66 influenza virus reassortants: The acidic polymerase (PA) protein gene confers temperature sensitivity and attenuated virulence // *Microbiol. Pathol.* 1987. Vol. 3. P. 93–108.
 20. Egorov A., Brandt S., Sereinig S. et al. Transfectant influenza A viruses with long deletions in the NS1 protein grow efficiently in Vero cells // *J. Virol.* 1998. Vol. 72. № 8. P. 6437–6441.
 21. Egorov A. Yu., Romanova Yu. R., Klimov A. I., Alexandrova G. I. Essential role of the PB2 gene in attenuation of the A/Leningrad/134/47/57 cold-adapted influenza virus strain // Abstract book of the Xth International Congress of Virology. 11–16 August, 1996. Jerusalem, Israel. 1996. P. 178. Abstr. PW27–16.
 22. Garcia-Sastre A., Durbin R. K., Zheng H. et al. The role of interferon in influenza virus tissue tropism // *J. Virol.* 1998. Vol. 72. № 11. P. 8550–8558.
 23. Garcia-Sastre A., Egorov A., Matassov D. et al. Influenza A virus lacking the NS1 gene replicates in interferon-deficient systems // *Virology*. 1998. Vol. 252. № 2. P. 324–330.
 24. Girard M. P. Report of the third meeting on “Influenza vaccines that induce broad spectrum and long-lasting immune responses” // World Health Organization, Geneva, Switzerland, December 3–4, 2007. *Vaccine*. 2008, doi:10.1016/j.vaccine.2008.03.006.
 25. Heath A. W., Maassab H. F., Odagiri T. et al. Cold-adapted reassortants of influenza A virus: pathogenicity of A/Ann Arbor/6/60 X A/Alaska/6/77 reassortant viruses in vivo and in vitro // *Archives of Virology*. 1986. Vol. 91. № 1–2. P. 53–60.
 26. Herlocher M. L., Clavo A. C., Treanor J., Maassab H. F. Phenotypic characteristics of A/AA/6/60 viruses and reassortants // Proceedings of Options for the Control of Influenza III / Eds. by Brown L. E., Hampson A. W., Webster R. G. International Congress Series. Amsterdam: Elsevier Science, 1996. P. 634–646.
 27. Herlocher M. L., Maassab H. F., Webster R. G. Molecular and biological changes in the cold-adapted “master strain” A/AA/6/60 (H2N2) influenza virus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993. Vol. 90. № 13. P. 6032–6036.
 28. Hoffman E., Mahmood K., Chen Z. et al. Multiple gene segment control the temperature sensitivity and attenuation phenotypes of ca B/Ann Arbor/1/66 // *J. Virol.* 2005. Vol. 79. № 17. P. 11014–11021.
 29. Jin H., Lu B., Zhou H. et al. Multiple amino acid residues confer temperature sensitivity to human influenza virus vaccine strain (FluMist) derived from cold-adapted A/Ann Arbor/6/60 // *Virology*. 2003. Vol. 306. P. 18–24.
 30. Jin H., Zhou H., Lu B., Kemble G. Imparting temperature sensitivity and attenuation in ferrets to A/Puerto Rico/8/34 influenza virus by transferring the genetic signature for temperature sensitivity from cold-adapted A/Ann Arbor/6/60 // *J. Virol.* 2004. Vol. 78. № 2. P. 995–998.
 31. Kelly G. D., Subbarao K. A temperature sensitive defect in PB2 protein expression in a transfectant virus bearing an engineered mutation in the PB2 gene // Abstract book of the Options for the control of influenza IV. Hersonissos, Crete, Greece. 23–28 September, 2000. P. 72. Abstr. W82–3.
 32. Kemble G., Jin H., Hoffmann E. et al. The molecular basis of the temperature sensitive (ts) and attenuation (att) phenotypes of FluMist™ vaccine strains // In Abstract book of “IVW–2004 Conference”. 2004. 24–26 May. Lisbon, Portugal. Session 7: Influenza vaccines/adjuvants.

33. Kendal A. P., Cox N. J., Murphy B. R. et al. Comparative studies of wild-type and "cold-mutant" (temperature sensitive) influenza viruses: geneology of the matrix (M) and non-structural (NS) proteins in recombinant cold-adapted H3N2 viruses // *J. Gen. Virol.* 1977. Vol. 37. № 1. P. 45–59.
34. Kendal A. P., Maassab H. F., Alexandrova G. I., Ghendon Y. Z. Development of cold-adapted recombinant live, attenuated influenza vaccines in USA and USSR // *Antiviral. Res.* 1981. Vol. 1. P. 339–365.
35. Kiseleva I., Klimov A., Su Q., Szymkowiak C. et al. Role of individual genes of the A/Leningrad/134/17/57 (H2N2) cold-adapted donor strain in manifestation of the temperature-sensitive phenotype of reassortant influenza A viruses // *Proceedings of Options for the Control of Influenza IV* / Eds. by Kawaoka Y. International Congress Series. Amsterdam: Elsevier Science, 2004. P. 547–550.
36. Klimov A. I., Cox N. J. PCR restriction analysis of genome composition and stability of cold-adapted reassortant live influenza vaccines // *J. Virol. Methods.* 1995. Vol. 52. № 1–2. P. 41–49.
37. Klimov A. I., Cox N. J., Yotov W. V. et al. Sequence changes in the live attenuated, cold-adapted variants of influenza A/Leningrad/134/57 (H2N2) virus // *Virology.* 1992. Vol. 86. P. 795–797.
38. Klimov A. I., Kiseleva I. V., Alexandrova G. I., Cox N. J. Genes coding for polymerase proteins are essential for attenuation of the cold-adapted A/Leningrad/134/17/57 (H2N2) influenza virus // *Proceedings of Options for the Control of Influenza IV* / Eds. by Osterhaus A., Cox N., Hampson A. W. International Congress Series. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. P. 955–959.
39. Maassab H. F. Adaptation and growth characteristic of influenza virus at 25 degrees C // *Nature.* 1967. Vol. 213. P. 612–614.
40. Maassab H. F., DeBorde D. C. Development and characterization of cold-adapted viruses for use as live virus vaccines // *Vaccine.* 1985. Vol. 3. № 5. P. 355–369.
41. Maassab H. F., DeBorde D. C., Donabedian A. M., Smitka C. W. Development of cold-adapted "master" strains for type B influenza virus vaccines // *Vaccines 85* / Eds. by Lerner R. A., Chanock M., Brown F. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, NY, 1985. P. 327–332.
42. Massicot J. G., Murphy B. R., Thierry F. et al. Temperature-sensitive mutants of influenza virus. Identification of the loci of the two ts lesions in the Udorn-ts-1A2 donor virus and the correlation of the presence of these two ts lesions with a predictable level of attenuation // *Virology.* 1980. Vol. 101. № 1. P. 242–249.
43. Mitchell B. M., DeBorde D. C. A procedure for the isolation of specific point mutants of influenza virus // *J. Virol. Methods.* 1993. Vol. 42. № 2–3. P. 181–191.
44. Murphy B. R., Buckler-White A. J., London W. T., Snyder M. H. Characterization of the M protein and nucleoprotein genes of an avian influenza A virus which are involved in host range restriction in monkeys // *Vaccine.* 1989. Vol. 7. № 6. P. 557–561.
45. Murphy B. R., Chalmub E. G., Nussinoff S. R. et al. Temperature-sensitive mutants of influenza virus. II. Attenuation of ts recombinants for man // *J. Inf. Dis.* 1972. Vol. 123. P. 170–178.
46. Murphy B. R., Chanock R. M. Genetic approaches to the prevention of influenza A virus infection // *Genetic Variations Among Influenza Viruses* / Ed. By D. P. Nayak. New York, 1981. P. 601–615.
47. Murphy B. R., Chanock R. M., Levine M. M. et al. Temperature-sensitive mutants of influenza virus: evaluation of the A/Victoria/75-ts-1A2 temperature-sensitive recombinant virus in seronegative adult volunteers // *Infect. Immun.* 1979. Vol. 23. № 2. P. 249–257.
48. Murphy B. R., Maassab H. F., Wood F. T. Jr., Chanock R. M. Characterization of the temperature sensitive phenotype of the A/Ann Arbor/6/60 cold-adapted virus and its recombinants // *Infect. Immun.* 1981. Vol. 32. № 2. P. 960–963.
49. Odagiri T., DeBorde D. C., Maassab H. F. Cold-adapted recombinants of influenza A virus in MDCK cells. I. Development and characterization of A/Ann Arbor/6/60 X A/Alaska/6/77 recombinant viruses // *Virology.* 1982. Vol. 119. № 1. P. 82–95.
50. Odagiri T., Smitka C. W., Maassab H. F. Cold-adapted reassortants of influenza A virus in MDCK cells. II. Role of the temperature-sensitive property of cold-adapted reassortants in mice // *Microbiol. Immun.* 1983. Vol. 27. № 2. P. 203–206.
51. Odagiri T., Tanaka T., Tobita K. Temperature-sensitive defect of influenza A/Ann Arbor/6/60 cold-adapted variant leads to a blockage of matrix polypeptide incorporation into the plasma membrane of the infected cells // *Virus Research.* 1987. Vol. 7. № 3. P. 203–218.
52. Odagiri T., Tosaka A., Ishida N., Maassab H. F. Biological characteristics of a cold-adapted influenza A virus mutation residing on a polymerase gene // *Archives of Virology.* 1986. Vol. 88. № 1–2. P. 91–104.
53. Offringa D. P., Tyson-Medlock V., Ye Z., Levandowski R. A. A comprehensive systematic approach to identification of influenza A virus genotype using RT-PCR and RFLP // *J. Virol. Methods.* 2000. Vol. 88. P. 15–24.
54. Palese P., Muster T., Zheng H. et al. Learning from our foes: a novel vaccine concept for influenza virus // *Arch. Virol. (Suppl.)* 1999. Vol. 15. P. 131–138.
55. Palese P., Ritchey M. B. Live attenuated influenza virus vaccine strains with temperature-sensitive defects in P3 protein and nucleoprotein // *Virology.* 1977. Vol. 78. № 1. P. 183–191.
56. Palese P., Schulman J. L. Mapping of the influenza virus genome: identification of the hemagglutinin and neuraminidase genes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1976. Vol. 73. P. 2142–2146.
57. Polezhaev F. I., Garmashova L. M., Alexandrova G. I. et al. Obtaining of "cold" recombinants of influenza vi-

- rus, possessing properties of attenuated strains // *Acta Virol.* 1974. Vol. 18. P. 364.
58. *Polezhaev F. I., Garmashova L. M., Polyakov Yu. M.* et al. Conditions for production of thermosensitive attenuated influenza virus recombinants // *Acta Virol.* 1978. Vol. 22. P. 263–269.
59. *Romanova J., Katinger D., Ferko B.* et al. Live cold-adapted influenza A vaccine produced in Vero cell line // *Virus Research.* 2004. Vol. 103. № 1–2. P. 187–193.
60. *Sakamoto S., Kino Y., Oka T.* et al. Gene analysis of reassortant influenza virus by RT–PCR followed by restriction enzyme digestion // *J. Virol. Methods.* 1996. Vol. 56. P. 161–171.
61. *Snyder M. H., Betts R. F., DeBorde D.* et al. Four viral genes independently contribute to attenuation of live influenza A/Ann Arbor/6/60 (H2N2) cold-adapted reassortant virus vaccines // *J. Virol.* 1988. Vol. 62. № 2. P. 488–495.
62. *Snyder M. H., Buckler-White A. J., London W. T.* et al. The avian influenza virus nucleoprotein gene and a specific constellation of avian and human virus polymerase genes each specify attenuation of avian-human influenza A/Pintail/79 reassortant viruses for monkeys // *J. Virol.* 1987. Vol. 61. № 9. P. 2857–2863.
63. *Snyder M. H., Clements M. L., De Borde D.* et al. Attenuation of wild-type human influenza A virus by acquisition of the PA polymerase and matrix protein genes of influenza A/Ann Arbor/6/60 cold-adapted donor virus // *J. Clin. Microbiol.* 1985. Vol. 22. № 5. P. 719–725.
64. *Subbarao E. K., Perkins M., Treanor J. J., Murphy B. R.* The attenuation phenotype conferred by the M gene of the influenza A/Ann Arbor/6/60 cold-adapted virus (H2N2) on the A/Korea/82 (H3N2) reassortant virus results from a gene constellation effect // *Virus Research.* 1992. Vol. 25. № 1–2. P. 37–50.
65. *Treanor J., Perkins M., Battaglia R., Murphy B. R.* Evaluation of the genetic stability of the temperature-sensitive PB2 gene mutation of the influenza A/Ann Arbor/6/60 cold-adapted vaccine virus // *J. Virol.* 1994. Vol. 68. № 12. P. 7684–7688.
66. *Treanor J. J., Snyder M. H., London W. T., Murphy B. R.* The B allele of the NS gene of avian influenza viruses, but not the A allele, attenuates a human influenza A virus for squirrel monkeys // *Virology.* 1989. Vol. 171. № 1. P. 1–9.
67. *Whitaker-Dowling P., Lucas W., Youngner J. S.* Cold-adapted vaccine strains of influenza A virus act as dominant negative mutants in mixed infections with wild-type influenza A virus // *Virology.* 1990. Vol. 175. № 2. P. 358–364.

Представлена членом-корреспондентом РАМН И. С. Фрейдлин

ВЛИЯНИЕ СОВРЕМЕННЫХ ЭПИДЕМИЙ ГРИППА НА СМЕРТНОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ ОТ ПНЕВМОНИИ

СМОРОДИНЦЕВА Е. А., СТОЛЯРОВ К. А., МАРИНИЧ И. Г.,

академик РАМН КИСЕЛЕВ О. И.

ГУ «Научно-исследовательский институт гриппа РАМН»,
Санкт-Петербург

Смородинцева Е. А., Столяров К. А., Маринич И. Г., Киселев О. И. Влияние современных эпидемий гриппа на смертность населения от пневмонии // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 28–34. ГУ «Научно-исследовательский институт гриппа РАМН», Санкт-Петербург, 198376, ул. Проф. Попова, 15/17.

Проведена оценка влияния современных эпидемий гриппа на смертность взрослого населения Санкт-Петербурга в возрасте 30 лет и старше от внебольничной и внутрибольничной пневмонии в 1993–2004 гг. С помощью корреляционного анализа выявлена прямая достоверная корреляционная связь между недельными показателями заболеваемости гриппом и другими ОРВИ и смертностью от пневмоний (по данным аутопсий) в большинство изученных лет. Количественные показатели «дополнительной» смертности определены с помощью регрессионного анализа (модель авторегрессии ARIMA). Максимальные показатели избыточной смертности от внебольничной пневмонии выявлены в эпидемии, вызванные антигенно резко отличающимися дрейф-вариантами вируса гриппа подтипа А(Н3N2) и вирусом гриппа типа В, минимальные показатели определены в эпидемии гриппа подтипа А(Н1N1). При внебольничной пневмонии «дополнительная» смертность прогрессивно возрастала с возрастом умерших, была достоверно выше среди мужчин в каждой возрастной группе (30–39, 40–49, 50–59, 60–69 и 70 лет и старше). При внутрибольничной пневмонии эти закономерности отсутствовали, показатели «дополнительной» смертности были достоверно значительно ниже, чем при внебольничной пневмонии.

Smorodinceva E. A., Stolyarov K. A., Marinich I. G., Kiselev O. I. The effect of modern influenza epidemics on population pneumonia mortality // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 3. P. 28–34. Research institute of influenza of the RAMS, St. Petersburg, 198376.

Influenza epidemics influence on community-acquired and nosocomial pneumonia mortality among St. Petersburg adults aged 30 years and older in 1993–2004 was evaluated by prepared with methods of correlation and regression analysis (ARIMA model). Correlation between weekly morbidity and mortality (for autopsy data) data among adult was determined in the most of years. Excess mortality was maximal in influenza epidemics caused by antigenically different drift-variant subtype A(H3N2) and type B viruses and was minimal in epidemics caused by subtype A(H1N1) influenza virus. For community-acquired pneumonia increase of excess mortality was observed in relationship with increasing of age of adults (age groups 30–39, 40–49, 50–59, 60–69 70 years and older), excess mortality of males was higher than females in each age group. These findings were not observed for nosocomial pneumonia. Excess mortality for nosocomial pneumonia was reliably lower, than for community-acquired pneumonia.

Одним из показателей, характеризующих тяжесть эпидемий гриппа, является увеличение смертности населения от соматических болезней, в первую очередь от пневмонии. Под термином «дополнительная смертность», введенным еще W. Фагг и XIX веке, понимают число случаев смерти, превышающее ожидаемое количество умерших в определенное время года в местности, охваченной эпидемией [16].

При проведении глобального надзора за гриппом в рамках Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) используется комплекс методов лабораторной диагностики и данные учета обращаемости населения за медицинской помощью в лечебно-профилактические учреждения [13]. Третий критерий ущерба – критерий «дополнительной» или избыточной смертности. Суммарный показатель избыточной смертности от гриппа и пневмонии является одним из ведущих параметров в систе-

ме надзора за гриппом в США. Он используется в Японии, Великобритании и других странах [11–15]. Кроме того, еще в 1997 г. L. Simonsen с соавт. предложили ввести индекс тяжести эпидемий гриппа различной этиологии, основанный на показателе «дополнительной» смертности от пневмонии [16]. Затем W. W. Thompson с соавт. выявили, что эпидемии гриппа последних десятилетий, как и в первой половине XX века, сопровождаются значительной «дополнительной» смертностью от сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний и предложили ввести суммарный показатель избыточной смертности от респираторных и циркуляторных болезней как критерий надзора за гриппом [17]. По мнению японских авторов, показатель «дополнительной» смертности от всех классов соматических болезней или «общей» смертности является адекватным критерием оценки тяжести современных эпидемий гриппа и

наряду с показателем «дополнительной» смертности от пневмонии может применяться в системе надзора за инфекцией [14].

В России система надзора за гриппом основана в первую очередь на регистрации заболеваемости по обращаемости населения за медицинской помощью. Учет смертности проводится только по случаям смерти непосредственно от гриппа. Исследования по изучению связи между заболеваемостью гриппом и смертностью от соматических болезней в нашей стране имели эпизодический характер и относились к периоду с 1957 по 1983 г., охватывая период циркуляции вируса гриппа подтипа А(Н2N2) и начало пандемического цикла вируса гриппа подтипов А(Н3N2) и А(Н1N1) [1, 2].

В последние десятилетия эпидемический процесс при гриппе определяется совместной циркуляцией вирусов гриппа подтипов А(Н1N1), А(Н3N2) и типа В, уменьшением интенсивности эпидемического процесса, с поражением в основном детских контингентов, особенно в эпидемии гриппа подтипа А(Н1N1) [4]. Тем не менее, в США количество смертельных случаев от гриппа и пневмонии во время обычных эпидемий и в последние десятилетия достигает 21 000–36 000 человек [13, 16].

Учитывая вышеизложенное, целью нашего исследования было выявить влияние современных эпидемий гриппа на смертность взрослого населения от пневмонии и количественно оценить его по показателю «дополнительной» смертности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Популяционное исследование было проведено в городе Санкт-Петербурге. В работе использована следующая официальная статистико-эпидемиологическая информация:

- банк данных Федерального центра по гриппу: стандартизованные по календарным и эпидемическим годам и календарным неделям годовые и недельные интенсивные показатели заболеваемости гриппом и ОРВИ взрослых (от 15 лет и старше) за 1993–2004 г.;
- официальные данные Санкт-Петербургского Комитета государственной статистики о численности населения Санкт-Петербурга, его возрастной и половой структуре;
- информация ВОЗ и Федерального центра по гриппу об этиологии эпидемий гриппа в зарубежных странах и в России за 1993–2004 г.;
- данные Санкт-Петербургского городского патологоанатомического бюро о летальных исходах внебольничной и внутрибольничной пневмонии среди взрослого населения Санкт-Петербурга за 1993–2004 г., подтвержденные результатами аутопсий. Выборка была проведена по первичным статистическим данным о смертности взросло-

го населения от 20 лет и старше в 10–12 районах Санкт-Петербурга, что составило более 70% взрослого населения этих возрастных групп [3]. Основным статистическим документом, позволяющим выбрать причину смерти, являлась унифицированная статистическая карта вскрытия, разработанная в организационно-методическом отделе Санкт-Петербургского городского патологоанатомического бюро. Выбор причины смерти проводился в соответствии с Международной классификацией болезней (МКБ-9 с 1993 по 1999 г. и МКБ-10 с 2000 по 2004 г.) [5]. Данные судебно-медицинской экспертизы в исследовании не включались.

Эпидемиологические методы. Анализ эпидемиологической информации о заболеваемости гриппом и ОРВИ в городе проводили с помощью компьютерной программы “Грипп”, разработанной и используемой в системе Федерального центра по надзору за гриппом и ОРВИ [6]. Анализ заключался в сравнении информации о заболеваемости гриппом и другими ОРВИ в интенсивных показателях за соответствующие недели в возрастной группе населения 15 лет и старше с порогами эпидемической заболеваемости для тех же недель для этого возраста. О начале эпидемии свидетельствовало превышение эпидемических порогов заболеваемости в возрастной группе взрослого населения более чем на 20% и нарастание темпов прироста заболеваний по сравнению с предыдущей неделей.

Статистические методы. Использовали пакет прикладных программ «Statistica 5.0» [9, 10]. Применяли методы непараметрической и параметрической статистики. Методы описательной статистики – для выявления доверительных интервалов, расчета средних величин, t-критерия, метод Манн-Уитни – для определения достоверности различий в малых выборках. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Метод корреляционного анализа – для выявления связи между годовой и еженедельной заболеваемостью гриппом и другими ОРВИ и, соответственно, годовой и еженедельной смертностью от внебольничной и внутрибольничной пневмонии взрослого населения Санкт-Петербурга. Оценивались взаимосвязи при коэффициенте корреляции $r < 0,3$ как слабые, $0,3 < r < 0,7$ как средние и $r > 0,7$ как сильные. При этом достоверность связи принималась как значимая при t-критерии $> 0,95$ и $p < 0,05$. Метод регрессионного анализа (модель ARIMA для анализа временных рядов) – для расчета ожидаемой неэпидемической смертности и выявления «дополнительной» смертности от внебольничной и внутрибольничной пневмонии взрослого населения в периоды эпидемий гриппа 1993–2004 г. В статистический анализ были взяты временные ряды данных еженедельной смертности (в интенсивных показателях на 100 000 населения) всего взрослого населения от 30 лет и

старше, а также отдельно мужчин и женщин каждой возрастной группы (30–39, 40–49, 50–59, 60–69, 70 лет и старше) за 1993–2004 эпидемические годы. Данные о смертельных исходах в возрастной группе 20–29 лет были исключены из исследования в связи с малым количеством зарегистрированных случаев смерти. Расчет ожидаемой еженедельной неэпидемической смертности проводился по показателям реальной недельной неэпидемической смертности в соответствующие недели предыдущих или последующих эпидемических лет (4,5 и более лет) отдельно для каждого временного ряда. Данные о еженедельной смертности в недели, относящиеся к эпидемии гриппа в эти годы, были заменены на средние неэпидемические показатели для этих недель. «Дополнительная» смертность была определена в каждом временном ряду отдельно, как разница между реальными показателями еженедельной смертности и рассчитанной неэпидемической смертностью для каждой недели эпидемического по гриппу периода за 1993–2004 эпидемические годы. Суммарная «дополнительная» смертность в каждой возрастной группе мужчин и женщин, а также по всему взрослому населению от 30 лет и старше рассчитывалась как сумма выявленной еженедельной «дополнительной» смертности за период эпидемии и недели постэпидемического периода в каждом эпидемическом году. Используемый метод позволил выявить «дополнительную» смертность в эпидемии 1993–1995 и 1997–2004 гг. В 1995–1997 гг. избыточная смертность не определялась.

РЕЗУЛЬТАТЫ

За рассматриваемый период было зарегистрировано 12 420 случаев смерти от внебольничной пнев-

монии и 7355 случаев смерти от внутрибольничной пневмонии среди взрослого населения в возрасте 30 лет и старше, подтвержденных данными аутопсий, из них при внебольничной пневмонии мужчин – 5091, женщин – 7329, при внутрибольничной пневмонии мужчин – 3626, женщин – 3729.

Связь смертности от пневмонии и заболеваемости гриппом и другими ОРВИ была определена с помощью корреляционного анализа по годовым и недельным интенсивным показателям заболеваемости и смертности взрослого населения Санкт-Петербурга (табл. 1). На первом этапе было показано, что динамика годовых интенсивных показателей смертности взрослого населения от внебольничной и внутрибольничной пневмонии в изучаемые годы не имеет достоверной корреляционной связи с годовыми показателями заболеваемости гриппом и другими ОРВИ: $r = -0,14$, $p = 0,66$ и $r = -0,42$, $p = 0,9$ соответственно.

На следующем этапе статистического исследования в корреляционный анализ были взяты интенсивные недельные показатели смертности от внебольничной или внутрибольничной пневмонии, с одной стороны, и заболеваемости гриппом и другими ОРВИ, с другой стороны, взрослого населения в каждом эпидемическом году. Результаты корреляционного анализа представлены в табл. 2.

Еженедельная смертность взрослого населения от внебольничной пневмонии в 1993–2004 гг. имела прямую достоверную корреляционную связь с еженедельной заболеваемостью гриппом и другими ОРВИ во все изучаемые эпидемические годы, кроме 1997/98 и 2003/04. Максимальная сила прямой корреляционной связи, 0,74, наблюдалась в 1998/99 эпидемическом году, в котором была зарегистрирована смешанная эпидемия гриппа подтипа А(Н3N2) и типа

Таблица 1

Годовые интенсивные показатели заболеваемости гриппом и другими ОРВИ (на 1000 взрослого населения) и смертности от внебольничной и внутрибольничной пневмонии (на 100 000 взрослого населения)

Календарные годы	Заболеваемость	Смертность	
		Внебольничная пневмония	Внутрибольничная пневмония
1993	134,6	38,2	39,8
1994	102,2	37,6	31,5
1995	128,3	38,7	26,4
1996	88,8	30,7	27,1
1997	113,8	27,7	20,9
1998	103,8	31,5	19,5
1999	134,3	38,0	19,0
2000	119,0	48,9	23,7
2001	95,3	51,7	25,3
2002	99,1	52,2	26,1
2003	122,4	64,3	26,9
2004	92,1	68,5	25,5

Корреляционная связь между интенсивными недельными показателями смертности от внебольничной и внутрибольничной пневмонии и заболеваемости гриппом и другими ОРВИ взрослого населения Санкт-Петербурга

Эпидемические годы	Этиология эпидемий	Внебольничная пневмония		Внутрибольничная пневмония*	
		Корреляционная связь (r)	Достоверность (p)	Корреляционная связь (r)	Достоверность (p)
1993/94	A(H3N2)	0,43	0,002	0,34	0,015
1994/95	B	0,46	0,001	0,44	0,01
1995/96	A(H3N2)	0,59	0,000	0,23	0,09
1996/97		0,38	0,005	0,41	0,03
1997/98	A(H1N1)+A(H3N2)	0,017	0,91	-0,24	0,09
1998/99	A(H3N2)+B	0,74	0,000	0,53	0,000
1999/2000	A(H3N2)+(H1N1)	0,52	0,000	0,34	0,014
2000/01	A(H1N1)	0,37	0,006	0,38	0,005
2001/02	B	0,51	0,000	0,52	0,000
2002/03	A(H3N2)	0,47	0,002	0,38	0,006
2003/04	A(H3N2)	0,13	0,001	0,27	0,054

* Временной ряд недельных показателей смертности сдвинут на 2 нед вправо относительно временного ряда заболеваемости гриппом и другими ОРВИ.

В, вызванная в основном резко отличающимся дрейф-вариантом вируса подтипа А (H3N2) – А/Сидней/05/97. Минимальная сила корреляционной связи между еженедельной смертностью от внебольничной пневмонии и еженедельной заболеваемостью гриппом и другими ОРВИ, 0,37, была выявлена в 2000/01 эпидемическом году. Эпидемия гриппа в этом году была связана с вирусом гриппа подтипа А(H1N1).

Динамика недельной смертности взрослого населения от внутрибольничной пневмонии в 1993–1998 гг. не имела прямой достоверной корреляционной связи с динамикой недельной заболеваемости гриппом и другими ОРВИ в большинстве изучаемых эпидемических лет. Статистически значимая корреляционная связь была выявлена только в 1996/97, 1999/2000 и 2001/02 эпидемические годы ($r=0,31, 0,62, 0,51$ соответственно). Однако при сдвиге временного ряда показателей смертности на 2 нед вправо относительно временного ряда заболеваемости гриппом и другими ОРВИ достоверную корреляционную связь удалось выявить в 8 из 11 эпидемических годах (табл. 2). Максимальная сила корреляционной связи, 0,53 и 0,52, была определена в 1998/99 и 2002/03 эпидемических годах соответственно.

Количественная оценка влияния эпидемий гриппа на смертность взрослого населения от пневмонии проводилась по «дополнительной» смертности в периоды эпидемий гриппа в каждом эпидемическом году.

В связи с увеличением интенсивных показателей смертности от внебольничной пневмонии после 2000 г. (табл. 1), из-за расширения рамок диагноза после введения Международной классификации болезней и травм X пересмотра (МКБ-X), анализ

полученных данных проводился по двум периодам – с 1993 по 1999 и с 1999 по 2004 г. [9]. Результаты проведенного исследования представлены в табл. 3.

«Дополнительная» смертность была выявлена во все изученные эпидемии гриппа. В первом ряде лет «дополнительную» смертность оказалось возможным определить в четыре эпидемии. Максимальный суммарный показатель, 3,6 на 100 000 взрослого населения, был выявлен в смешанную эпидемию гриппа типа А и В в 1999 г., вызванную, главным образом, резко отличающимся дрейф-вариантом вируса гриппа подтипа А(H3N2) А/Сидней/05/97. Несколько меньший показатель – 2,7 на 100 000 взрослого населения, – в период эпидемии гриппа типа В 1995 г., обусловленной новым дрейф-вариантом В/Пекин/184/93. Во время эпидемии гриппа, связанной с длительно циркулирующими антигенными вариантами вируса подтипа А(H3N2) в 1994 г., и смешанной эпидемии, вызванной в основном штаммами подтипа А(H1N1), подобными эталону А/Берн/07/95 и в меньшей степени А(H3N2) в 1998 г., этот показатель оказался достоверно меньшим – 1,8 на 100 000 взрослого населения ($p<0,05$). Средний суммарный показатель «дополнительной» смертности за 1993–1995 и 1997–1999 гг. составил 2,5 на 100 000 взрослого населения.

Во втором ряде лет, с 1999 по 2004 эпидемический год, были выявлены те же закономерности. Так, максимальный показатель суммарной «дополнительной» смертности, 4,6 на 100 000 взрослого населения, был определен в эпидемию гриппа подтипа А(H3N2) 2003/04 года, вызванную антигенным вариантом А/Фудзянь/411/02. Наименьшая избыточная смертность, 2,2 на 100 000 взрослого насе-

«Дополнительная» смертность от внебольничной и внутрибольничной пневмонии взрослого населения Санкт-Петербурга в периоды эпидемий гриппа 1993–1995 и 1997–2004 эпидемических лет (на 100 000 взрослого населения)

Эпидемический год	Этиология эпидемии	«Дополнительная» смертность	
		Внебольничная пневмония	Внутрибольничная пневмония
1993/94	A(H3N2)	1,8	0,9
1994/95	B	2,7	0
1997/98	A(H1N1)+A(H3N2)	1,8	0,8
1998/99	A(H3N2)+B	3,6	0,9
1999/2000	A(H3N2)+ A(H1N1)	2,3	1,7
2000/01	A(H1N1)	2,2	0,3
2001/02	B	2,6	0,8
2002/03	A(H3N2)	3,0	0,3
2003/04	A(H3N2)	4,6	0,6

ления, была зарегистрирована в эпидемию гриппа подтипа A(H1N1) в 2001 г., обусловленную появившимся дрейф-вариантом A/Новая Каледония/20/99. Средний суммарный показатель «дополнительной» смертности в 1999–2004 гг. составил 2,9 на 100 000 взрослого населения.

Удельный вес «дополнительной» смертности взрослого населения в возрасте 30 лет и старше в зарегистрированной в эти же недели смертности от внебольничной пневмонии колебался от 22,7 до 40,9%.

В большинстве эпидемий был выявлен значительный сдвиг времени начала и окончания регистрации «дополнительной» смертности по сравнению с периодом эпидемии по заболеваемости взрослого населения: от 2 нед влево по временному ряду в начале эпидемии гриппа типа B 1995 г. до 8 нед вправо в конце эпидемии гриппа подтипа A(H3N2) 2003/04 эпидемического года.

В отдельных возрастных группах взрослого населения показатели избыточной смертности от внебольничной пневмонии изменялись весьма значительно (рис. 1). Так, в первом ряде лет максимальные суммарные показатели «дополнительной» смертности в большинстве возрастных групп мужчин и женщин были зарегистрированы в эпидемию гриппа типа B 1995 г. В то же время в возрастной группе 70 лет и старше максимальная избыточная смертность – 49,5 и 16,5 на 100 000 соответственно мужчин или женщин возрастной группы – была выявлена в смешанную эпидемию гриппа подтипа A(H3N2) и типа B 1999 года.

Во втором ряде лет максимальные показатели избыточной смертности у женщин в возрасте 30–39 лет и у мужчин 40–49 лет были отмечены в эпидемии, вызванные вирусом гриппа подтипа A(H1N1). В более старших возрастных группах – 50–69 лет у мужчин и 40–69 лет у женщин, – в эпидемию грип-

па подтипа A(H3N2), обусловленную дрейф-вариантом A/Фудзянь/411/02 в 2003/04 году. Среди мужчин старшей возрастной группы несколько больший показатель был выявлен в эпидемию гриппа типа B 2002 года, а среди женщин 70 лет и старше – в эпидемию, обусловленную дрейф-вариантом вируса гриппа подтипа A(H3N2) – A/Москва /10/99 2003 года.

Таким образом, «дополнительная» смертность зависела от этиологии возбудителя, вызвавшего эпидемию. Так, максимальные показатели суммарной «дополнительной» смертности были определены в смешанную эпидемию гриппа типа A и B 1999 года, обусловленную в основном резко измененным антигенным вариантом вируса гриппа подтипа A(H3N2) – A/Сидней/05/97. По сравнению с эпидемическими штаммами 1993–1997 гг. A/Йоханнесбург/33/94 и A/Шандонг/9/93, вирус A/Сидней/05/97(H3N2) отличался по антигенной характеристике гемагглютинаина в 8–16 раз в перекрестной РТГА. Именно это, по нашему мнению, привело к росту заболеваемости и «дополнительной» смертности в эпидемию 1999 года. При определении суммарных показателей избыточной смертности в отдельных возрастных группах взрослого населения высокие показатели были также определены и в эпидемию гриппа типа B 1995 года, вызванную новым дрейф-вариантом B/Пекин/184/93. Значительные показатели избыточной смертности были выявлены, кроме того, в эпидемии 2003/04 г. – после появления дрейф-вариантов вируса гриппа подтипа A(H3N2) A/Москва/10/99 и A/Фудзянь/412/02. Наименьшие показатели были определены нами во время эпидемий, вызванных вирусом гриппа подтипа A(H1N1) – дрейф-варианты A/Берн/07/95 в 1998 и A/Новая Каледония/20/99 в 2001 г., и в эпидемии, обусловленные длительно циркулирующими штаммами подтипа A(H3N2) 1996/97 г. – A/Йоханнесбург/33/94, A/Шандонг/9/93, A/Люань/359/95 [158]. Таким образом, нами было

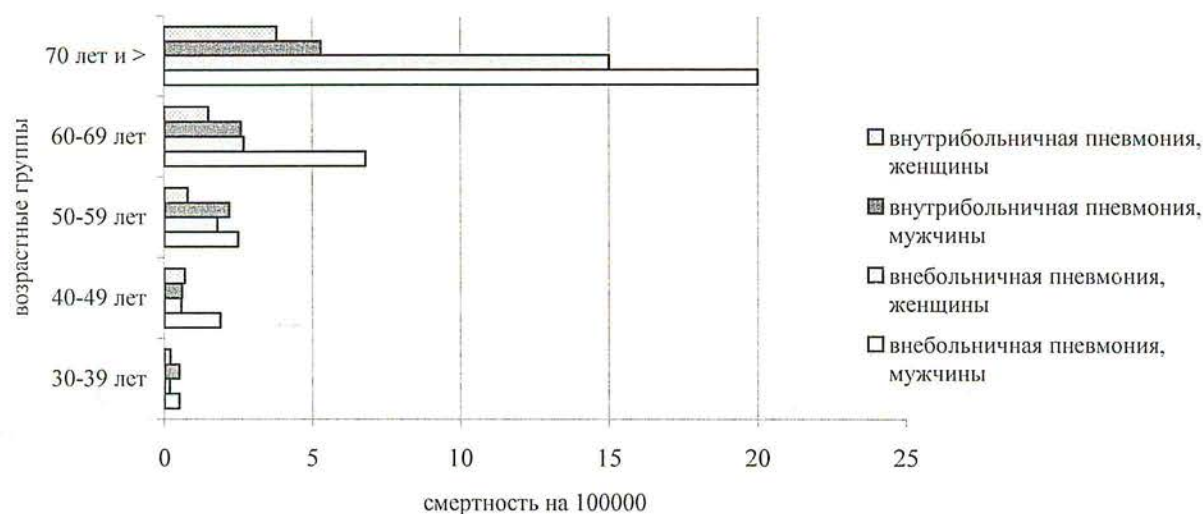


Рис. 1. Средние показатели «дополнительной» смертности от внебольничной и внутрибольничной пневмонии в отдельных возрастных группах мужчин и женщин

подтверждено, что, как и в эпидемии прошлых лет, наибольшая «дополнительная» смертность связана с резко отличными дрейф-вариантами вируса гриппа подтипа А(Н3N2) и новыми антигенными вариантами типа В. В то же время впервые появившиеся дрейф-варианты вируса гриппа подтипа А(Н1N1), вызвав эпидемический подъем заболеваемости в эпидемии 1998 и 2001 гг., оказались неспособными вызвать значительную избыточную смертность среди взрослого населения. Отмеченные нами отличия в показателях избыточной смертности полностью согласуются с результатами эпидемиологических исследований, проведенных в те же годы в США L. Simonsen и W. W. Thompson [16, 17].

Количественная оценка влияния современных эпидемий гриппа на смертность взрослого населения от внутрибольничной пневмонии показала следующее. «Дополнительная» смертность была выявлена во все эпидемии, кроме эпидемии гриппа типа В 1995 г., однако она была достоверно ниже, чем при внебольничной пневмонии (табл. 3). Максимальный суммарный показатель, 1,7 на 100 000 взрослого населения, был определен в смешанную эпидемию гриппа типа А, вызванную, главным образом, новым дрейф-вариантом вируса подтипа А(Н3N2) – А/Сидней/05/97 в 2000 г., достоверно меньше – во все остальные эпидемии ($p < 0,05$). Средний суммарный показатель «дополнительной» смертности в эпидемии 1993–1995 и 1997–2004 гг. составил 0,7 на 100 000 взрослого населения, т. е. был в 4 раза ниже соответствующих показателей при внебольничной пневмонии.

Период регистрации избыточной смертности был ограничен 1 нед в эпидемию 2003 г. и 2 нед – в эпидемию 2001 г. В другие эпидемии сдвиг времени начала и окончания регистрации «дополнительной»

смертности по сравнению с регистрацией эпидемического подъема заболеваемости варьировал от 1 нед влево по временному ряду в начале до 2 нед вправо в конце эпидемии.

Удельный вес «дополнительной» смертности в зарегистрированной в эти же недели смертности взрослого населения колебался от 27,3% в эпидемию 2004 г. до 50,0% в эпидемию 1998 г.

В отдельных возрастных группах мужчин и женщин средние суммарные показатели избыточной смертности варьировали от 0,2 до 5,3 на 100 000 мужчин или женщин возрастной группы. Максимальный показатель, 10,1 на 100 000 мужчин возрастной группы, был определен среди мужчин в возрасте 70 лет и старше в смешанную эпидемию 1999 г. Этот показатель был почти в 5 раз ниже, чем соответствующий показатель при внебольничной пневмонии. Среди женщин максимальный показатель был выявлен у женщин в возрасте 70 лет и старше в эпидемию гриппа 2003 г. Этот показатель был в 2,5 раза ниже максимального показателя при внебольничной пневмонии. Периоды регистрации «дополнительной» смертности достаточно часто были ограничены 1–3 нед. В других случаях сдвиг времени начала и окончания выявления избыточной смертности варьировал от 1 нед вправо в начале до 5 нед вправо в конце эпидемии.

Впервые выявленное нами отсутствие статистически значимой причинно-следственной связи между заболеваемостью гриппом и другими ОРВИ и смертностью взрослого населения от внутрибольничной пневмонии и весьма низкие показатели «дополнительной» смертности в большинство эпидемий гриппа связаны, вероятно, с различными причинами возникновения внебольничных и внутрибольничных пневмоний. Так, внутрибольничные пневмонии

возникают чаще у послеоперационных больных, пациентов реанимационных отделений, у больных после искусственной вентиляции легких, фибробронхоскопии [8]. Естественно, что эта категория больных меньше подвержена влиянию эпидемического вируса гриппа в связи с ограничением контактов с другими людьми в период эпидемии гриппа.

Проведенное популяционное исследование показало, что современные эпидемии гриппа, несмотря на снижение уровня заболеваемости взрослого населения, сопровождаются значительной «дополнительной» смертностью от внебольничной пневмонии, что согласуется с данными зарубежных авторов [11, 13, 16, 17]. Нами впервые показано, что современные эпидемии гриппа оказывают незначительное влияние на смертность взрослого населения от внутрибольничной пневмонии.

ВЫВОДЫ

1. Современные эпидемии гриппа оказывают негативное влияние на смертность взрослого населения в возрасте 30 лет и старше от внебольничной пневмонии, вызывая «дополнительную» смертность. Средний суммарный показатель избыточной смертности составил 2,7 на 100 000 взрослого населения (от 1,8 до 4,6 на 100 000 взрослого населения).

2. «Дополнительная» смертность мужчин при внебольничной пневмонии достоверно превышает «дополнительную» смертность женщин в 2,2 раза (от 1,3 до 3,2).

3. «Дополнительная» смертность при внебольничной пневмонии прогрессивно увеличивается с возрастом умерших. В каждой следующей возрастной группе среди мужчин «дополнительная» смертность возрастала в 1,3–5,6 раза, среди женщин – в 1,5–5,6 раза.

4. Показатели «дополнительной» смертности зависят от этиологии эпидемий гриппа. Максимальная «дополнительная» смертность выявлена в эпидемии гриппа, обусловленные резко отличающимся дрейф-вариантами вируса гриппа подтипа А(Н3N2), значительные показатели «дополнительной» смертности были отмечены в эпидемии, связанные с появлением новых дрейф-вариантов вируса гриппа типа В. Наименьшая избыточная смертность была определена в эпидемии гриппа подтипа А(Н1N1).

5. Современные эпидемии гриппа не оказывают значительного влияния на смертность взрослого населения от внутрибольничной пневмонии. Коэффициент корреляции между недельными показателями заболеваемости гриппом и ОРВИ и смертности от внутрибольничной пневмонии взрослого населения не превышал 0,4 в большинство лет. Показатели «дополнительной» смертности были достоверно значительно ниже, чем при внебольничной пневмонии.

Литература

1. Жуков А. О. Дополнительная смертность населения в связи с гриппом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Л., 1979. 19 с.
2. Иванников Ю. Г., Жуков А. О., Парсагашвили Е. З. Смертность от гриппа, ОРЗ и острой пневмонии как один из факторов, определяющих здоровье населения // Вестник РАМН. 1994. № 9. С. 44–48.
3. Ковальский Г. Б. Структура смертности, качество прижизненной диагностики в стационарах и амбулаторно-поликлинических учреждениях Санкт-Петербурга (взрослое население) за 2004 год // Библиотека патологоанатома. 2005. Вып. 63. 32 с.
4. Карнова Л. С., Маринич И. Г. Уровни, структура и динамика годовой заболеваемости гриппом и ОРЗ в России // Эпидемиол. и вакцинопроф. 2006. № 2 (27). С. 23–26.
5. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем: 10 пересмотр // ВОЗ. Т. 3. Женева, 1988. 924 с.
6. Методические указания по оперативному анализу и прогнозированию эпидемической ситуации по гриппу и острым респираторным вирусным инфекциям (ОРВИ). Утв. Минздрав СССР. 25.12.2005. Л., 1999. 78 с.
7. Семенов Б. Ф., Покровский В. И. Вакцинопрофилактика инфаркта, инсульта и летальности при эпидемическом подъеме гриппа // ЖМЭИ. 2004. № 2. С. 95–99.
8. Черемисина И. А. Частота патологии легких и уровень клинической диагностики в Санкт-Петербурге по данным аутопсий: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2000. 22 с.
9. Юнкеров В. И., Григорьев С. Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. СПб.: ВМедА., 2002. 266 с.
10. Юнкеров В. И. Основы математико-статистического моделирования вычислительной техники в научных исследованиях: Лекции для адъюнктов и аспирантов / Под ред. В. И. Кувакина. СПб., 2000. 140 с.
11. Brammer T. L., Murray E. L., Fukuda K. et al. Surveillance for influenza – United States, 1997/98, 1998/99, and 1999/00 seasons // MMWR. 2002. Vol. 51 (SS07). P. 1–10.
12. Fleming D. M., Cross K. W., Pannell R. S. Influenza and its relationship to circulatory disorders // Epidemiol. Infect. 2005. Vol. 133. № 2. P. 255–262.
13. Klimov A., Simonsen L., Fukuda K., Cox N. Surveillance and impact of influenza in United States // Vaccine. 1999. № 17. S. 42–46.
14. Reichert T. A., Sugaya N., Fedson D. S. et al. The Japanese experience with vaccinating schoolchildren against influenza // N. Engl. J. Med. 2001. Vol. 344. № 12. P. 889–896.
15. Shindo N. Morbidity and mortality of influenza in Japan // Nippon Rinsho. 2000. Vol. 58. № 11. P. 2187–2191.
16. Simonsen L., Clarke J., Williamson G. D. et al. The impact of influenza epidemics on mortality: introducing a severity index M // Am. J. Public Health. 1997. Vol. 87. № 12. P. 1944–1950.
17. Thompson W. W., Shay D. K., Weintraub E. et al. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States // JAMA. 2003. Vol. 289. № 2. P. 179–186.

АНАЛИЗ СОВРЕМЕННОГО ПАТОМОРФОЗА РАКА ЖЕЛУДКА НА ПОПУЛЯЦИОННОМ УРОВНЕ

ДАНИЛОВА И. А., МЕРАБИШВИЛИ В. М., член-корреспондент РАМН АНИЧКОВ Н. М.,
ЧЕПИК О. Ф.

ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия
им. И. И. Мечникова»,

ФГУ ВПО «Научно-исследовательский институт онкологии им. проф. Н. Н. Петрова»,
Популяционный раковый регистр Санкт-Петербурга,
Санкт-Петербург

Данилова И. А., Мерабишвили В. М., Аничков Н. М., Чепик О. Ф. Анализ современного патоморфоза рака желудка на популяционном уровне // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 35–45. ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург, 195067, Пискаревский пр., 47; ФГУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. проф. Н. Н. Петрова», Санкт-Петербург, 197758, п/о Песочный-2, ул. Ленинградская, д. 68; Популяционный раковый регистр Санкт-Петербурга, Санкт-Петербург.

Проведен комплексный сравнительный популяционный анализ важнейших эпидемиологических и клинико-морфологических показателей рака желудка (РЖ) как одной из наиболее частых форм злокачественного роста, влияющих на современную медико-демографическую ситуацию. Многоплановым исследованием современных особенностей патоморфоза РЖ, основанным на данных Ракового регистра СПб. за 1994–2005 г., подтверждена актуальность проблемы, определяемая высоким удельным весом заболевания и поздней диагностикой на стадии генерализации. Выявлены: контингенты высокого риска; представительство различных гистологических форм РЖ и их корреляция с однолетней выживаемостью пациентов, а также недостатки морфологической диагностики РЖ на госпитальном этапе, ее объективные причины и возможности рациональной коррекции. Представляется целесообразным учет результатов проведенной работы с целью оптимизации как индивидуального, так и группового прогноза заболевания. Полученные данные подтверждают необходимость разработки и внедрения в практическое здравоохранение профилактических скрининг-программ как единственного метода выявления «доклинического» раннего РЖ и снижения количества случаев «запущенного» РЖ.

Ключевые слова: рак желудка, популяционный анализ, контингенты риска, морфологическая диагностика, скрининг-программы.

Danilova I. A., Merabishvili V. M., Anichkov N. M., Chepick O. F. Analysis of contemporary stomach cancer pathomorphosis on population level // Med. Acad. Journ. 2008. T. 8. № 3. P. 35–45. St. Petersburg Mechnikov State Medical Academy, St. Petersburg, 195067; N. N. Petrov Institute of Oncology, St. Petersburg, 197758; Population Cancer Register, St. Petersburg.

Here we have performed a comparative population analysis of the most important epidemiological and clinical-morphological indicators of stomach cancer (SC) pathogenesis. SC is one of the most frequent forms of malignant growth that have an impact on the current demographic situation. A profound study of the contemporary SC pathomorphosis features based on the data of St Petersburg Cancer Registry from 1994–2005 has confirmed the actuality of the problem, defined by the high incidence of the disease and late diagnostics at the generalization stage. Risk groups have been revealed, as well as the frequency of different histological forms of SC and their correlation with one-year survival of the patients. Moreover, we have determined the deficits in morphological diagnostics of SC at the hospital stage, the objective causes of these deficits and possibilities of rational improvement. The results of this work should be helpful in optimizing individual as well as group prognosis of the disease. Our data confirm the necessity of developing and introducing prophylactic screening programs as the only method of detecting early preclinical SC and reducing the incidence of advanced SC.

Key words: stomach cancer, population analysis, risk groups, morphological diagnostics, screening programs.

В России смертность от новообразований занимает третье место (12,5%), а средний возраст умерших на 15–20 лет ниже, чем в странах Европы. Такие показатели влияют на современную медико-демографическую ситуацию, угрожающую национальной безопасности РФ, и определяют стратегическое направление государственной политики по ее оптимизации [10]. Среди всех злокачественных опухолей одной из наиболее частых форм остается рак желудка (РЖ), при котором смертность превышает европейские по-

казатели в несколько раз [1, 5, 8]. У более чем 80% пациентов РЖ первично диагностируется на стадии тяжелой интра- и внеорганный опухолевой прогрессии [7]. Это уменьшает число больных, подлежащих радикальной операции, снижает эффективность хирургического вмешательства, как основного метода лечения, и «удерживает» РЖ в группе низкокурабельных заболеваний [2, 8, 11].

Единственным методом выявления «доклинического» раннего РЖ и снижения количества случаев

«запущенного» РЖ являются скрининг-программы [11]. Для их разработки и внедрения в практическое здравоохранение необходимо изучение патоморфоза опухолей желудка на современном этапе с уточнением эпидемиологических особенностей и конкретизацией контингентов риска. Эффективность такого направления оправдана многолетним зарубежным опытом, но не имеет подтверждения на отечественном материале [12, 14, 19].

Ключевое значение при ведении больных с РЖ имеют вопросы прогноза, решение которых затруднено отсутствием единого подхода к рубрикации опухолевой пролиферации в желудке. В настоящее время ее основой является р-TNM-классификация, верифицирующая опухолевую интраорганный (Т) и внеорганный лимфо- и гематогенную (N; M) прогрессию [22]. Прогностическая значимость указанной классификации получила международное признание, однако остается спорной и недостаточно изученной прогностическая оценка гистологического строения и структурной организации РЖ, не учитываемая системой TNM [13, 14, 23].

Отчасти такое положение определяется органоспецифическими особенностями раковой пролиферации в желудке, где различия в гистологическом строении в одном опухолевом узле являются скорее правилом, чем исключением. При этом классификация ВОЗ (2000 г.) ограничена лишь некоторыми гистологическими вариантами без детализации характерных для РЖ смешанных форм роста [3, 18]. Исключение из прогностической оценки данных о гистологическом строении опухоли в свое время привело к появлению многочисленных зарубежных классификаций РЖ [16, 17, 20, 21, 22]. Их общим недостатком, по нашему мнению, является отсутствие единого подхода к верификации и учет разнонаправленных биологических особенностей и направлений опухолевого роста. К таковым относятся: гистологические, гистогенетические, прогностические особенности, по Lauren P. [21]; характер опухолевой прогрессии, по Ming S-C. [22]; уровень инвазии, по Grundmann E. [17]; гистологические и морфофункциональные характеристики, по N. Goseki [16].

Таким образом, проблема требует комплексного клинко-морфологического исследования на современном этапе для решения и уточнения вопросов диагностики, классификации, прогноза. Необходимость оптимизации как индивидуального, так и группового прогноза при РЖ обуславливает целесообразность изучения современных особенностей его патоморфоза на популяционном уровне.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами проведено комплексное сравнительное исследование важнейших эпидемиологических и кли-

нико-морфологических показателей РЖ на основе данных Популяционного ракового регистра (ПРР) Санкт-Петербурга за период 1994–2005 гг. Были изучены: удельный вес заболевания; возраст и пол пациентов; гистогенетические особенности опухолевого роста; классификационный подход и адекватность морфологической верификации с учетом гистологических форм и выживаемости больных.

Общее количество случаев злокачественных опухолей желудка (ЗОЖ) составило 13 162 (рис. 1), из них подавляющее число наблюдений представлено первичным РЖ – 13 058 (99,15%);

- метастатическое вовлечение желудка при опухолях различного гистогенеза и анатомической локализации имелось у 67 больных (0,5%);
- неэпителиальные опухоли являлись редкой нозологической формой ЗОЖ – 37 случаев (0,28%).

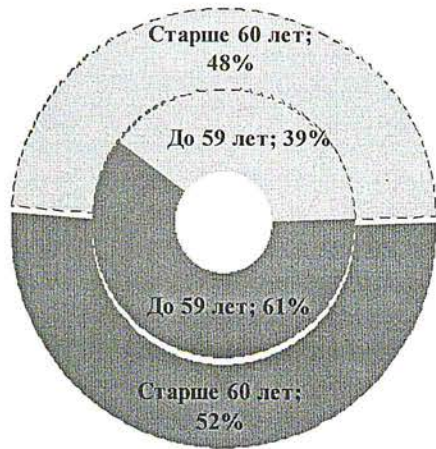
Оценка частоты заболевания на изученном материале в сравнении с данными ПРР за 1995 г. не выявила количественных различий и, следовательно, положительной динамики удельного веса РЖ в структуре онкозаболеваний, стабильно занимающего 2-е место у мужчин и 3-е – у женщин. В то же время, по данным ПРР, аналогичный показатель в других странах был существенно ниже: в Финляндии – 5–7-е место; в США – 10-е и 15-е – среди белого и 5–12-е – среди афроамериканского населения [5].

Анализ распределения всех случаев РЖ по полу не выявил достоверных различий: 7095 (54,4%) мужчин и 5955 (45,6%) женщин. Однако сопоставительная оценка удельного веса РЖ, пола и возраста пациентов вскрыла существенно большую частоту заболевания у мужчин моложе 59 лет в сравнении с женщинами того же возраста (рис. 2) – соответственно 61% (2287) и 39% (1466).

При этом аналогичный показатель нивелировался в старших возрастных группах: 4808 мужчин (52%)



Рис. 1. Структура опухолевого поражения желудка у жителей Санкт-Петербурга, 1994–2005 гг. (данные ПРР)



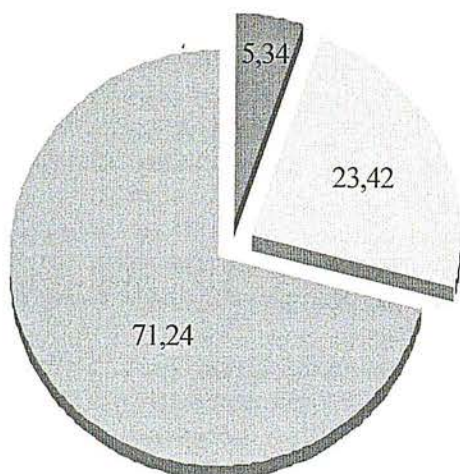
■ Мужчины ■ Женщины

Рис. 2. Возрастно-половое распределение пациентов с РЖ за период 1994–2005 гг. (данные ПРР)

и 4489 женщин (48%). Отсюда, наши результаты уточняют современные представления о контингентах риска по РЖ и корректируют мировые данные о двукратном превышении заболеваемости мужчин [8, 9, 15] с важной поправкой на возраст пациентов.

При изучении возрастной характеристики РЖ была установлена ее прямая корреляция с частотой заболевания: наименьшее количество наблюдений выявлено у пациентов моложе 44 лет (5,34% – 697) в сравнении с лицами старше 60 лет (71,24% – 9297). Следовательно, данные популяционного исследования опровергают устоявшееся в госпитальной практике суждение о значительном «омоложении» РЖ (рис. 3).

Популяционный анализ включал в себя качественную характеристику гистологических форм РЖ, документированных патологоанатомическими службами городских стационаров [6]. Анализ дан-



■ до 44 лет ■ 45-49 лет ■ 60 и старше

Рис. 3. Повозрастное распределение пациентов с РЖ за период 1994–2005 гг. (%), данные ПРР)

ных СПб ПРР выявил распространенный перечень классификационных критериев РЖ, используемых в госпитальной практике: гистогенетический; морфофункциональный; архитектурный; макроскопический; цитологический; реактивный тканевой; проявления инвазивного роста (табл. 1).

Полученные результаты не только свидетельствуют о многообразии форм опухолевого роста в желудке, но и подтверждают сложность классификационной оценки РЖ на уровне первичного диагностического звена, что во многом определяется отсутствием рационального рубрификационного подхода.

С целью оптимизации этой проблемы в 1965 г. Р. Лауген, изучив более 1400 операционных наблюдений, предложил объединить многочисленные варианты РЖ в два основных типа, отличающихся как гистологическим строением и гистогенезом, так и прогнозом: кишечный и диффузный [21].

По Р. Лауген, прогностически благоприятный кишечный РЖ имеет метапластическое происхождение и представлен разновидностями высоко-, умереннодифференцированной, в том числе сосочковой, аденокарциномы. Диффузный, или желудочный, РЖ – не метапластический, отличается крайне неблагоприятным прогнозом, не имеет тканевого типа роста, представлен низкодифференцированными, перстневидноклеточными, мелкоклеточными лимфоцитоподобными и анапластическими структурами.

Подобная рубрификация завоевала признание за рубежом, была включена в классификацию ВОЗ последнего пересмотра (2000 г.), но не приобрела широкого распространения в России. По нашим данным, за весь период исследования в СПб. при верификации РЖ классификация Р. Лауген применялась не более 25 раз.

Анализ представленных разнонаправленных принципов морфологической верификации подтверждает отсутствие единого подхода к диагностике РЖ уже на первичном, госпитальном уровне, что отражается затем в популяционном масштабе. При общей тенденции повышения удельного веса морфологически подтвержденных диагнозов РЖ в СПб. (с 55,2% в 1980 г. до 83,6% в 2006 г.), по нашим данным, до 82,3% (10 744) наблюдений за период 1994–2005 гг. имели *обобщающий* диагноз «рак БДХ (без дополнительной характеристики)» при отсутствии детализации гистологических форм (рис. 4). Подобная диагностика, ограничивающаяся констатацией эпителиального гистогенеза опухоли, не адекватна современным диагностическим возможностям, клинической тактике и заведомо исключает возможность прогностической оценки РЖ по комплексу клинико-морфологических критериев.

Таким образом, данные ПРР за 12 лет наблюдения иллюстрируют формальный подход к диагнос-

Характеристика гистологических форм РЖ (С 16), зарегистрированных онкологической службой Санкт-Петербурга за период 1994–2005 гг. (данные ПРР)

№ п/п	Гистологические варианты	Принцип рубрикации	Код
1	<i>In situ</i>	Наличие инвазии	8140/2
2	Рак БДХ		
2.1	Карцинома БДХ	Гистогенез	8010/3
2.2	Аденокарцинома БДХ	То же	8140/3
3	Малигнизированный аденоматозный полип	Макроскопический	
3.1	Аденокарцинома в аденоматозном полипе	То же	8210/3
3.2	Аденокарцинома в железисто-ворсинчатой аденоме	То же	8263/3
4	Аденокарцинома		
4.1	Поверхностно распространяющаяся	Уровень инвазии, характер прогрессии	8143/3
4.2	Пластический линит	Тканевая реакция	8142/3
4.3	Скиррозная	То же	8141/3
4.4	Трабекулярная	Тип строения	8190/3
4.5	Аденоид-кистозная	Тип строения	8200/3
4.6	Тубулярная	Тип строения	8211/3
4.7	Солидная карцинома БДХ	Тип строения	8230/3
4.8	Папиллярная	Тип строения	8260/3
4.9	Ворсинчатая	Тип строения	8262/3
4.10	Цистаденокарцинома БДХ	Тип строения	8440/3
4.11	Ацинарно-клеточная	Цитологические особенности	8550/3
4.12	Кишечного типа	Тип строения, цитологические, прогностические особенности (по P. Laugen)	8144/3
4.13	Светлоклеточная	Цитологические особенности	8310/3
4.14	Муцинозная	Функциональные особенности (слизеобразование)	8480/3
4.15	Слизеобразующая	Функциональные особенности (слизеобразование)	8481/3
5	Низкодифференцированный рак		
5.1	Крупноклеточный	Цитологические особенности	8012/3
5.2	Карцинома недифференцированная БДХ	Тканевая дифференцировка	8020/3
5.3	Анапластическая БДХ	Цитологические особенности	8021/3
5.4	Плеоморфная	Цитологические особенности	8022/3
5.5	Гиганто- и веретенчатая	Цитологические особенности	8030/3
5.6	Мелкоклеточная БДХ	Цитологические особенности	8041/3
5.7	Диффузного типа	Архитектонические, цитологические, прогностические особенности (по P. Lauren)	8145/3
5.8	Перстневидноклеточная	Цитологические особенности	8490/3
6	Редкие гистологические дифференцировки		
6.1	Плоскоклеточная	Направление дифференцировки	8070/3
6.1.1	Плоскоклеточная БДХ	То же	8070/3
6.1.2	Плоскоклеточная ороговевающая БДХ	То же + функциональные особенности	8071/3
6.1.3	Плоскоклеточная крупноклеточная неороговевающая	То же + цитологические + функциональные особенности	8072/3
6.1.4	Плоскоклеточная мелкоклеточная неороговевающая	То же + цитологические+ функциональные особенности	8073/3
6.1.5	Железисто-плоскоклеточная (адено-сквамозная)	Направление дифференцировки	8560/3
6.2	Переходно-клеточная	Направление дифференцировки	8120/3
6.2.1	Переходно-клеточная БДХ	То же	8120/3



Рис. 4. Количественное соотношение морфологически верифицированных наблюдений РЖ в валовом операционном материале за период 1994–2005 гг. (оба пола, %, данные ПРР)

тике заболевания: важная для прогноза детализация РЖ на гистологические формы опухолевого роста в клиниках СПб. проводилась лишь в 17,7% (2306) наблюдений. При этом сравнительный анализ удельного веса различных гистологических форм установил преобладание прогностически неблагоприятных перстневидноклеточного и низкодифференцированного рака – соответственно 48,3% (1113) и 25,1% (578) пациентов. С учетом преимущественной заболеваемости лиц пожилого возраста полученные нами данные не подтверждают зарубежных сведений о наибольшем распространении у больных данного возраста высокодифференцированного РЖ кишечного типа, отличающегося лучшим прогнозом [3, 7, 20].

Менее характерным гистологическим вариантом РЖ явилась аденокарцинома различной дифференцировки (папиллярно-тубулярная, ворсинчатая, муцинозная, слизеобразующая) – 12% (277 случаев). Не типичным для данной анатомической локализации был плоско- и переходноклеточный рак – 5,9% (136 больных). Не частыми формами опухолевого роста стали склерозный и солидный рак – соответственно 4,6% (105) и 2,0% (47) наблюдений.

В качестве наиболее редкого варианта РЖ отмечена поверхностно растущая аденокарцинома – 0,05% (12 пациентов).

С учетом неодинакового представительства гистологических форм РЖ проведен сравнительный анализ их частоты у пациентов различных возрастных групп: до 44, от 45 до 59, старше 60 лет. Возрастная детализация подтвердила выявленную для всей популяции закономерность: в каждой из трех групп

преобладали перстневидноклеточный и низкодифференцированный РЖ. На их долю приходилось соответственно 1,0; 2,68; 4,84 и 0,29; 1,16; 2,96% (рис. 5). Повозрастное распределение наблюдений выявило обратно пропорциональную зависимость удельного веса склерозного РЖ и возраста: 3-е по частоте место у лиц до 44 лет, 5-е – у пациентов 45–59 лет и 6-е – у больных старше 60 лет. Редкие гистологические дифференцировки РЖ чаще встречались у пожилых пациентов: 3-е по частоте место (у лиц среднего возраста – 4-е; у молодых – 5-е).

С учетом выявленной зависимости удельного веса РЖ от пола и возраста (см. рис. 2) изучена сравнительная характеристика встречаемости основных гистологических вариантов РЖ в зависимости от пола пациентов (табл. 2). Эти данные сопоставлены с важнейшим медико-демографическим показателем – *однолетней наблюдаемой выживаемостью* (отношение числа больных, переживших контрольный срок, к числу больных, взятых под наблюдение, выраженное в процентах).

Подавляющее число наблюдений (99,94% – 13 050) представляли случаи прогрессирующего РЖ. Их количество прямо пропорционально увеличивалось по мере прорастания опухоли в глубокие отделы стенки желудка: 4,2% (112 больных) – 1-я стадия; 13,1% (348) – 2-я; 33,3% (8861) – 3-я; 37,1% (987) – 4-я. В 12,3% (328) наблюдений РЖ верификация стадии опухолевой прогрессии не проводилась [5, 6]. При этом неинвазивный рак (Ca in situ) из всей популяционной выборки обнаружен лишь у 0,06% (8) пациентов, что свидетельствует об отсутствии

Распределение гистологических вариантов РЖ (С 16) и однолетней наблюдаемой выживаемости в зависимости от пола пациентов за период 1994–2005 гг. (данные ПРР)

№ п/п	Гистологический тип РЖ	Абсолютные показатели: мужчины/ женщины	Однолетняя наблюдаемая выживаемость: мужчины/женщины, %
1	Малигнизированная аденома		
1.1	Аденокарцинома в аденоматозном полипе	19/18	78,9/83,3
1.2	Аденокарцинома в железисто-ворсинчатой аденоме	1/0	100,0/-
2.	Рак БДХ		
2.1	Карцинома БДХ	33/28	41,2/34,4
2.2	Аденокарцинома БДХ	5904/4774	46,5/49,3
3	Аденокарцинома		
3.1	Поверхностно распространяющаяся	7/5	100,0/80,0
3.2	Скиррозная	44/60	21,0/55,0
3.3	Пластический линит (как вариант скиррозной аденокарциномы)	1/0	100,0/-
3.4	Трабекулярная	2/2	0,0/50,0
3.5	Аденоид-кистозная	1/2	0,0/100,0
3.6	Тубулярная	5/2	60,0/100,0
3.7	Солидная карцинома БДХ	27/22	40,7/35,0
3.8	Папиллярная	9/2	55,6/0,0
3.9	Ворсинчатая	4/6	50,0/81,8
3.10	Цистаденокарцинома БДХ	5/5	0,0/40,0
3.11	Ацинарно-клеточная	0/1	-/0,0
3.12	Муцинозная	58/34	62,1/58,8
3.13	Слизеобразующая	73/69	45,2/49,3
4	Низкодифференцированный рак		
4.1	Крупноклеточный	0/1	-/0,0
4.2	Карцинома недифференцированная БДХ	173/169	38,4/43,0
4.3	Анапластический БДХ	108/92	39,8/47,8
4.4	Плеоморфный	1/0	100,0/-
4.5	Гиганто- и веретеночелочный	1/0	100,0/-
4.6	Мелкоклеточный БДХ	3/5	33,3/55,6
4.7	Диффузного типа	15/10	33,3/20,0
4.8	Перстневидноклеточный	512/601	43,2/48,4
5	Редкие гистологические дифференцировки		
5.1	Плоскоклеточная		
5.1.1	Плоскоклеточная БДХ	58/28	29,3/35,7
5.1.2	Плоскоклеточная ороговевающая БДХ	6/5	33,3/40,0
5.1.3	Плоскоклеточная крупноклеточная неороговевающая	15/5	24,1/60,0
5.1.4	Плоскоклеточная мелкоклеточная неороговевающая	1/1	100,0/0,0
5.1.5	Железисто-плоскоклеточная (аденосквамозная)	6/5	16,7/40,0
5.2	Переходно-клеточная		
5.2.1	Переходно-клеточная БДХ	3/3	66,7/66,7
	ВСЕГО: мужчины/ женщины	7095/5955	
	ИТОГО пациентов	13050	

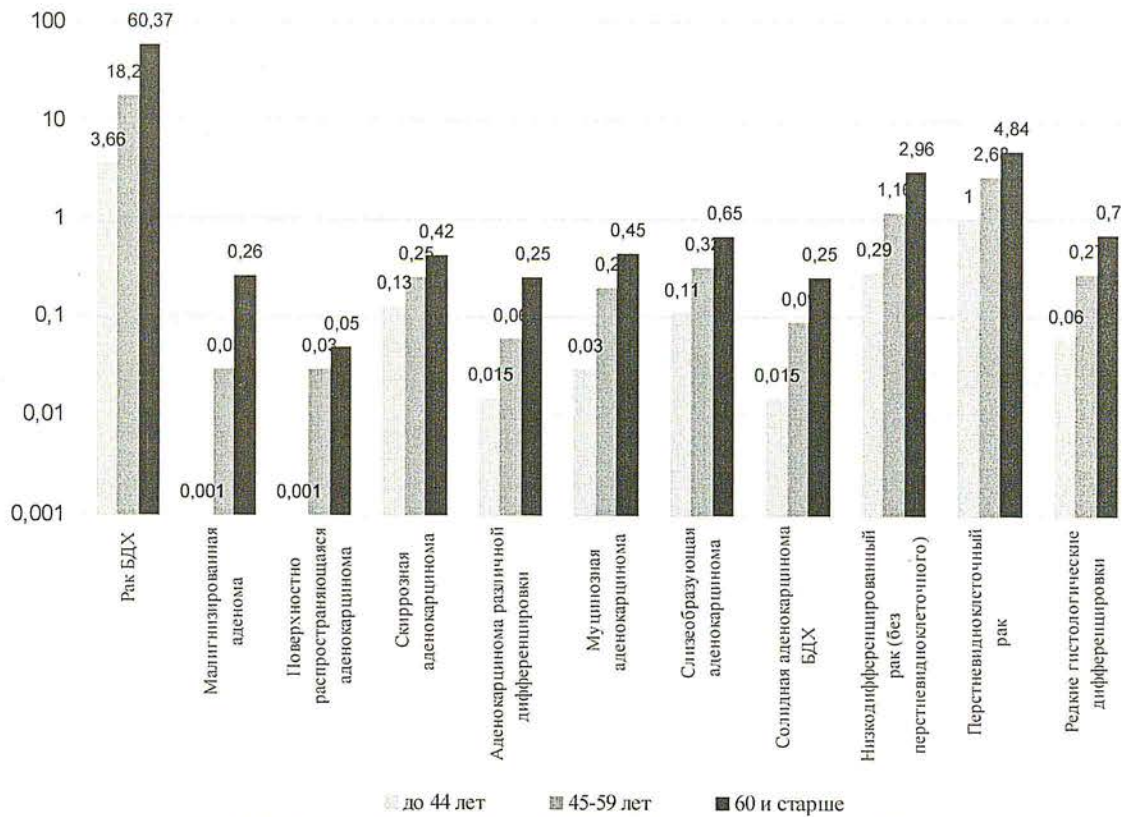


Рис. 5. Повозрастное распределение гистологических форм РЖ (%), данные ПРР

диагностики доклинических неинвазивных форм РЖ в Северо-Западном регионе РФ. Данные, выявленные в результате широкого внедрения эндоскопического оборудования, убеждают в необходимости *активного выявления клинически латентных неинвазивного и раннего инвазивного РЖ* путем скрининга пациентов из групп риска.

Преобладание перстневидноклеточной и низкодифференцированной форм опухолевого роста, выявленное на популяционном уровне при возрастном распределении РЖ, подтвердилось при анализе наблюдений в зависимости от пола пациентов (рис. 6).

В то же время отмечены определенные различия частоты некоторых гистологических форм РЖ в зависимости от пола: редкая (плоско- и переходноклеточная) дифференцировка чаще встречалась у мужчин, склерозная форма рака – у женщин (соответственно 0,68 и 0,36; 0,34 и 0,45%).

Еще одним рассматриваемым медико-демографическим показателем была выживаемость пациентов, обуславливающая возможность прогностической оценки заболевания на индивидуальном и групповом уровнях. Анализ полученных данных в сопоставлении с полом (рис. 7) и возрастом (рис. 8) больных определил значительные отличия группового прогноза для разных гистологических форм РЖ, подтвердив обязательность их детализации на госпитальном уровне.

Сопоставительный анализ обозначил группу прогностически благоприятных гистологических вариантов РЖ независимо от пола пациента: поверхностно растущая аденокарцинома; малигнизировавшая аденома; муцинозная; склерозная аденокарцинома. Представляется закономерным наличие в ней первых двух вариантов РЖ, характеризующихся начальной инвазией в стенку желудка. Такую же оценку имеет, как правило, высокодифференцированная муцинозная аденокарцинома. Однако наличие в группе склерозной аденокарциномы явилось непрогнозируемым фактом, требующим дальнейшего изучения в сопоставлении с другими важнейшими клинкоморфологическими критериями (отдел желудка; макроскопическая форма роста; объем первичного опухолевого узла и др.).

Оценка наблюдаемой однолетней выживаемости при различных гистологических вариантах РЖ в сопоставлении с возрастом пациентов выявила прямую корреляцию этих показателей (рис. 8).

Так, у пациентов в возрасте до 44 лет из 11 гистологически верифицированных форм РЖ две – отсутствовали, четыре (муцинозная, склерозная, перстневидноклеточная и редкая гистологическая дифференцировка) – отличались лучшей выживаемостью и только одна – была на одинаковом уровне с аналогичным показателем у старших пациентов. Напротив, выживаемость пациентов старше 60 лет была

МУЖЧИНЫ



ЖЕНЩИНЫ



Рис. 6. Распределение гистологических форм РЖ в зависимости от пола пациентов, 1994–2005 гг. (% , данные ПРР)

наименьшей при семи гистологических формах РЖ; в двух из них – сопоставима с показателями у молодых больных и только в оставшихся двух (малигнизировавшая аденома и низкодифференцированный рак) – превышала сроки жизни молодых пациентов.

Наши данные, применительно к изучаемой анатомической локализации, противоречат концепции крайне неблагоприятного прогноза и наиболее агрессивного биологического поведения «рака молодых» и согласуются с отечественными исследованиями [4].

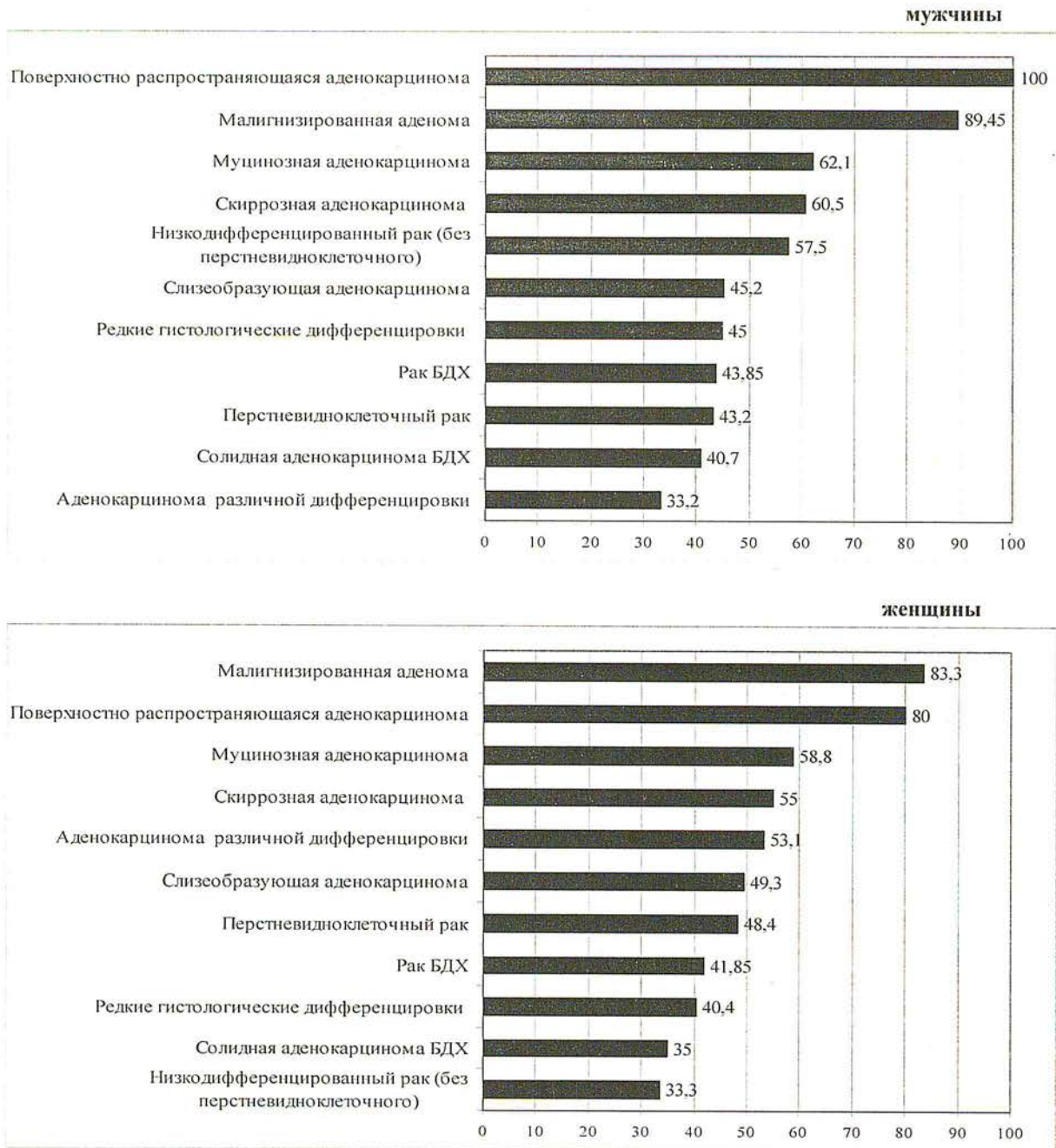


Рис. 7. Однолетняя наблюдаемая выживаемость больных при различных гистологических формах РЖ за период 1994–2005 гг. (%), данные ПРР)

Таким образом, представленный многоплановый популяционный анализ важнейших медико-демографических показателей в сопоставлении с качественными и количественными показателями морфологической верификации РЖ позволил значительно расширить комплексную клинко-морфологическую характеристику заболевания на современном этапе. Полученные данные подтверждают необходимость усовершенствования современной гистологической классификации РЖ с учетом корреляции структурной организации опухоли и индивидуального и группового прогноза.

ВЫВОДЫ

1. Популяционное сравнительное исследование позволило нам выявить прямую корреляцию удельного веса РЖ с возрастом и полом пациентов: контингентами высокого риска являются пациенты обоего пола старше 60 лет (71,24%).

2. Однолетняя выживаемость пациентов трех возрастных групп (до 44; 45–59; старше 60 лет) варьирует от 26,8–33 до 85,7–100% и зависит от гистологической формы РЖ, определяя необходимость ее конкретизации при комплексной морфологической диагностике.

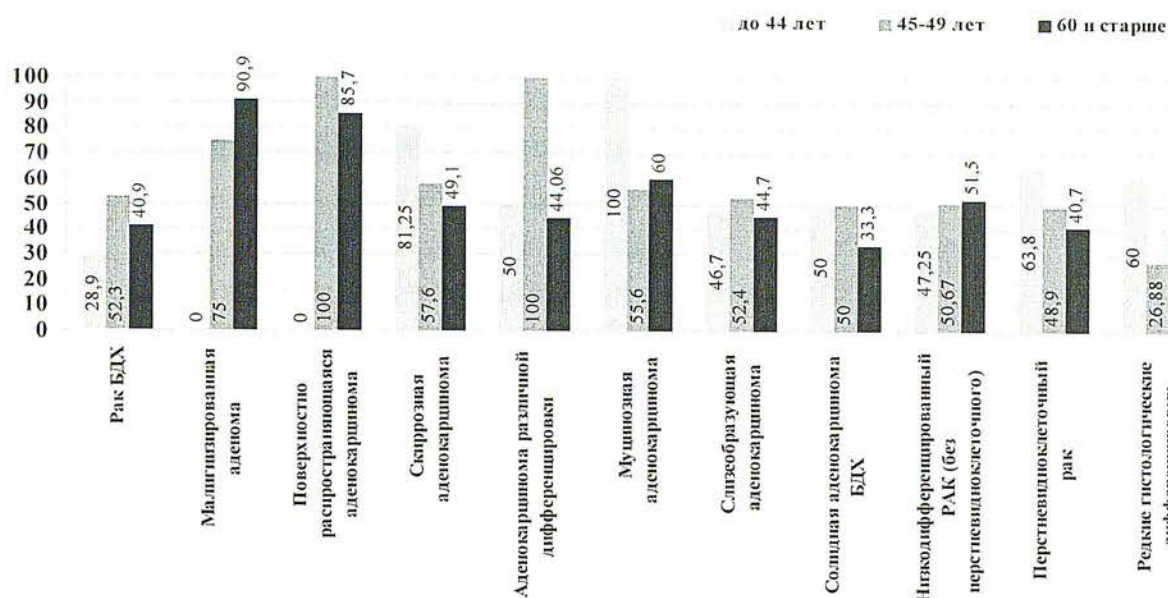


Рис. 8. Повозрастная однолетняя наблюдаемая выживаемость пациентов обоего пола при различных гистологических формах РЖ за период 1994–2005 гг. (%), данные ПРР

3. Полученные данные свидетельствуют о более благоприятном групповом прогнозе заболевания для молодого контингента больных (до 44 лет).

4. Установлена разнонаправленность морфологической диагностики РЖ на госпитальном этапе с отсутствием четкой рубрикации гистологических форм и преобладанием диагностического заключения «рак без дополнительной характеристики (БДХ)» – 82,3%. Такое положение снижает возможность индивидуальной и групповой оценки заболевания.

5. Недостаточный уровень рубрикационной гистологической оценки требует коррекции и дополнения современной гистологической классификации РЖ (ВОЗ, пересмотр 2000 г.) с учетом прогностического значения структурных и морфофункциональных особенностей гистологических форм опухолевого роста.

Литература

1. Аничков Н. М., Кветной И. М., Коновалов С. С. Биология опухолевого роста (молекулярно-медицинские аспекты). СПб., 2004.
2. Давыдов М. И., Тер-Ованесов М. Д. Современная стратегия хирургического лечения рака желудка // Современная онкол. 2000. Т. 2. № 1. С. 4–12.
3. Данилова И. А. Современные представления о классификации и патоморфологии карциномы желудка // Новые данные о редких и распространенных заболеваниях: Сб. научных трудов, посвященных 300-летию СПб., 100-летию больницы им. Петра Великого и 90-летию каф. патол. анатомии СПбГМА им. И. И. Мечникова / Под ред. Н. М. Аничкова. СПб., 2003. С. 59–77.
4. Мерабишвили В. М. Выживаемость онкологических больных. СПб., 2006.
5. Мерабишвили В. М. Злокачественные новообразования в мире, России, Санкт-Петербурге. СПб., 2007.
6. Мерабишвили В. М. Онкологическая служба в Санкт-Петербурге и районах города в 2007 г. // Ежегодник Популяционного ракового регистра. СПб., 2008.
7. Мерабишвили В. М. Рак желудка: эпидемиология, профилактика, оценка эффективности лечения на популяционном уровне // Практическая онкология: Избранные лекции / Под ред. С. А. Тюляндина, В. М. Моисеенко. СПб., 2004. С. 433–442.
8. Пальцев М. А., Аничков Н. М. Атлас патологии опухолей человека. М., 2005.
9. Патология: Руководство / Под ред. М. А. Пальцева, В. С. Паукова, Э. Г. Улумбекова. М., 2002.
10. Постановление XVII сессии Общего Собрания РАМН от 4 октября 2006 г.
11. Симонов Н. Н., Мясукина Л. М., Филип А. В. и др. Проблемы диагностики и лечения раннего рака желудка (TisN0M0 и T1N0M0) // Прак. онкол. 2001. № 3 (7). С. 25–29.
12. Asaka M., Kato M., Kudo M. et al. Atrophic changes of gastric mucosa are caused by Helicobacter pylori infection rather than aging: studies in asymptomatic Japanese adults // Helicobacter. 1996. Vol. 1. P. 52–56.
13. Chiaravalli A. M., Cornaggia M., Furlan D. et al. The role of histological investigation in prognostic evaluation of advanced gastric cancer. Analysis of histological structure and molecular changes compared with invasive pattern and stage // Virchows Arch. 2001. Vol. 439 (2). P. 158–169.
14. De Manzoni G., Roviello F., Varrelli D. et al. Influence of histological type on prognosis of patients undergoing curative intervention for gastric adenocarcinoma. Italian multicenter study // Ann Ital. Chir. 2001. Vol. 72 (1). P. 13–18.

15. *Faycal J., Bessaquet C., Nousbaum J. B. et al.* Epidemiology and long term survival of gastric carcinoma in the French district of Finistere between 1984 and 1995 // *Gastroenterol. Clin. Biol.* 2005. Vol. 29 (1). P. 23–32.
16. *Goseki N., Takizawa T., Koike M.* Differences in the mode of extension of gastric cancer classified by histological type: new histological classification of gastric carcinoma // *Gut.* 1992. Vol. 33. P. 606–612.
17. *Grundmann E., Schlake W.* Histological classification of gastric cancer from initial to advanced stages // *Pathol. Res. Pract.* 1982. Vol. 173 (3). P. 260–274.
18. *Hamilton S. R., Aaltonen L. A.* Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System // World Health Organization Classification of Tumours / Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC) Press. Lyon., 2000. P. 37–61.
19. *Hermanek P., Wittekind Ch.* The Pathologist and the Residual Tumor ® Classification // *Path. Res. Pract.* 1994. Vol. 190. P. 115–123.
20. *Kaminishi M., Takubo K., Mafune K.* The diversity of gastric carcinoma. Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. Tokyo: Springer-Verlag, 2005.
21. *Lauren P.* The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a Histo-Clinical Classification // *Acta path. et microbiol. scandinav.* 1965. Vol. 64. P. 31–49.
22. *Ming S-C.* Gastric Carcinoma. A pathobiological classification // *Cancer.* 1977. Vol. 39. P. 2475–2485.
23. *Ribeiro M. M., Seixas M., Sobrinho-Simoes M.* Prognosis in gastric carcinoma. The preeminence of staging and futility of histological classification // *Digest. Dis. Pathol.* 1988. Vol. 1. P. 51–68.

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МУКОЗАЛЬНЫХ ИНАКТИВИРОВАННЫХ ГРИППОЗНЫХ И АДЕНОВИРУСНЫХ ВАКЦИН С АДЬЮВАНТОМ

КУЗНЕЦОВ О.К., КОРНЕЕВА Э. П., СТЕПАНОВА Л. А., ИСПОЛАТОВА А. В.,
КОРОТКОВ А. В., ГАШИНСКАЯ О. В., РЕПКО И. А., БАННИКОВ А. И., ЗАЙЦЕВ Ф. Н.
ГУ «Научно-исследовательский институт гриппа РАМН»,
Санкт-Петербург

Кузнецов О. К., Корнеева Э. П., Степанова Л. А., Исполатова А. В., Коротков А. В., Гашинская О. В., Репко И. А., Банников А. И., Зайцев Ф. Н. Доклиническое изучение специфической активности мукозальных инактивированных гриппозных и аденовирусных вакцин с адьювантом // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 46–54. ГУ «Научно-исследовательский институт гриппа РАМН», Санкт-Петербург, 198376, ул. Проф. Попова, 15/17.

В экспериментах на мышах изучали специфическую активность опытных образцов мукозальных инактивированных гриппозной и аденовирусной вакцин, содержащих оригинальный адьювант кораубан – полисахарид микробного происхождения, индуктор интерферона. Использованы: цельновирионная яичная гриппозная вакцина (ГРИПКОР) и расщепленная культуральная аденовирусная вакцина, вводимые в виде моновакцин и в составе дивакцины. Интраназальное 1-разовое введение животным вакцины ГРИПКОР (H3N2) индуцировало широкий спектр гетеротипической защитной активности (к вирусам гриппа типов А и В) в первые дни после прививки, гомологичной субтипической (к H3) и гетеросубтипической (к H1) – в поздние сроки после иммунизации. Показано, что ранняя устойчивость иммунизированных мышей к летальной гриппозной инфекции обусловлена активацией синтеза интерферона, а поздняя – активацией секреторных и сывороточных антител.

По уровню нарастания секреторных антител выявлена высокая эффективность орально-лингвального способа 2–3-разовой иммунизации мышей вакциной ГРИПКОР (H1N1, H5N1). Однако преимущество адьювантного действия кораубана при увеличении кратности прививок становилось менее заметным. По нарастанию титров секреторных антител в бронхиальных смывах иммунизированных мышей установлена высокая антигенная активность (3–4-кратный прирост) гриппозно-аденовирусной дивакцины (H5N1, Адб) и соответствующих моновакцин при мукозальной (интраназальной, орально-лингвальной) 2-разовой иммунизации животных.

Ключевые слова: грипп, аденовирусная инфекция, экспериментальные инактивированные вакцины с адьювантом, интраназальная и орально-лингвальная иммунизация.

Kuznetsov O. K., Korneeva E. P., Stepanova L. A., Ispolatova A. V., Korotkov A. V., Gashinskaya O. V., Repko I. A., Bannikov A. I., Zaytsev F. N. Pre-clinical study of the specific activity mucosal inactivated influenza and adenovirus vaccines with adjuvant // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 3. P. 46–54. Research institute of influenza of the RAMS, St. Petersburg, 198376.

The specific activity of experimental specimens of mucosal inactivated influenza and adenovirus vaccines with original adjuvant (corauban - a polysaccharide of microbial origin, interferon- γ inducer) was studied in mice. The specimens were: whole virion egg influenza vaccine (GRIPCOR) and split cultural adenovirus vaccine, input as monovaccines or divalent vaccine. Intranasal one-fold application to mice of vaccine GRIPCOR (H3N2) induced the broad spectrum of heterotypic protective activity (to the influenza viruses types A and B) in the first days after vaccination, homologous subtypic (to H3) and heterosubtypic (to H1) – in late period after vaccination. It was shown, that early resistance of immune mice to the lethal influenza infection was determined by interferon synthesis and late resistance – by synthesis of secretory and serum antibodies.

It was revealed the high efficacy of the oral-lingual method of 2–3-fold mice immunization with vaccine GRIPCOR (H1N1, H5N1), estimated by increase of secretory antibodies. But the advantage of adjuvant effect of corauban with increasing of fold of immunization became less noticeable. It was determined a high antigen activity (3–4-fold increase of sIgA in bronchial washes) of the influenza-adenovirus divalent vaccine (H5N1, Adb) and corresponding monovaccines under mucosal (intranasal, oral-lingual) two-fold animals immunization.

Key words: influenza, adenovirus infection, experimental inactivated vaccines with adjuvant, intranasal and oral-lingual immunization.

Мукозальные инактивированные вирусные вакцины рассматриваются как альтернатива инъекционным вакцинам. Преимуществами мукозальных вакцин могут быть удобство их применения, низкая реактогенность, исключение риска случайного заражения в процессе иммунизации, формирование иммунного ответа более широкого спектра по сравне-

нию с парентеральными вакцинами и другие достоинства, связанные с особенностями специфического и адьювантного компонентов вакцин [2, 3, 5, 9–11].

В последние годы, в отличие от широкого применения в мире гриппозных вакцин, аденовирусные (Ад) вакцины не используются, хотя с момента открытия Ад-вируса (1953) отечественными и зарубеж-

ными исследователями разработаны эффективные препараты живых и убитых Ад-вакцин. Так, в СССР и США в 70–80-х гг. прошлого века была разработана живая бивалентная Ад-вакцина, включающая серотипы Ад4 и Ад7. Вакцина при орально-энтеральном введении обеспечивала почти 100% снижение заболеваемости Ад-инфекцией среди новобранцев. В СССР эта вакцина не была внедрена в производство, в то время как в США был налажен ее коммерческий выпуск, но в 1996 г. он был прекращен. С 2008 г. в связи с ростом заболеваемости аденовирусными инфекциями в США возобновляется производство живой вакцины из модифицированных штаммов Ад4 и Ад7 [17, 18]. Ад-вакцины не находили массового применения по различным причинам: узкий (штаммспецифический) диапазон защитного действия, опасения возможной реверсии штаммов живых вакцин, потенциальная онкогенность Ад-вирусов, необходимость 2–3-кратного парентерального введения инактивированных вакцин и др. Не нашли применения в медицинской практике и перспективные ДНК-Ад-вакцины. Основная причина – риск потенциальной опасности применения таких вакцин выше, чем ожидаемая от них польза [2, 4].

В этой статье представлены сводные данные, полученные при разработке инактивированных гриппозных и аденовирусных вакцин с адьювантом, предназначенных для мукозального применения (интраназального и орально-лингвального). Учитывали, что вирусы гриппа и Ад-вирусы вызывают массовые, часто сочетанные, острые заболевания дыхательных путей, поражая все возрастные группы населения. Воротами обеих инфекций обычно являются клетки слизистой оболочки верхних дыхательных путей. Следовательно, индукция местного иммунитета и, прежде всего, перекрестнореагирующих IgA-антител в этом участке дыхательного тракта может защитить организм от этих инфекций. Исходили из потенциальной возможности создания препаратов моновакцин и гриппозно-аденовирусной дивакцины с широким спектром защитной активности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гриппозные моновакцины готовили из штаммов вирусов: А/Новая Каледония/20/99 (H1N1), А/Ленинград/289/83 (H3N2), А/Аичи/2/68 (H3N2) и А/NIBRG-14 (H5N1). Инактивированные гриппозные вакцины (ИГВ) представляли собой убитые УФ-лучами (H3N2) или формалином (H1N1, H5N1) высокоочищенные вирионы гриппа, полученные в лабораторных (H1N1 и H3N2) или в опытно-производственных (на базе НПМ «Микроген») условиях (H5N1). ИГВ использовали с адьювантом и без адьюванта. Адьювантом служил кораубан (КА) – оригинальный полисахарид микробного происхождения, об-

ладающий интерферогенным и иммуномодулирующим свойствами [9]. Его молекулярная формула – $(C_6H_5O_{10})_n$, химическое название – поли-β-1,3-глюкопиранозил-D-глюкоза. Условное название механической смеси цельновирионной ИГВ с кораубаном – ГРИПКОР. Одна мышьяная доза моновакцины содержала 1000 гемагглютинирующих единиц (ГАЕ, 3 мкг гемагглютинина) одного из серотипов вируса H1, H3 или H5 и 200 мкг кораубана.

Аденовирусную моновакцину готовили в лабораторных условиях из высокопродуктивного расщепленного модельного вируса Ад-6, накопленного в клетках линии Vero. При создании вакцины стремились максимально сохранить основной протективный антиген – гексон, содержащий тип-, субтип- и группоспецифические детерминанты, способные индуцировать защитную активность широкого спектра. Очистку вирусного материала проводили, используя последовательно следующие операции: осаждение клеточного детрита низкоскоростным дифференциальным центрифугированием и первичное удаление примесных белков сорбцией на гидроокиси алюминия; расщепление вируса тетраглюколем и дополнительная очистка от примесных клеточных белков иммуносорбцией; освобождение от примесей ДНК клеточного и вирусного происхождения обработкой протаминсульфатом. В результате была достигнута высокая степень очистки вируса по белку (99,7%) до соотношения весового количества общего белка к 1 ГАЕ специфического антигена в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) – 0,004 мкг/1 ГАЕ. В процессе очистки достигалось эффективное удаление клеточной и вирусной ДНК, в конечном продукте выявлено менее 10 нг/мл. Полученный материал был использован для изготовления Ад-моновакцины (128 ГАЕ специфического антигена в одной мышьяной дозе). Адьювантом служил кораубан, взятый в той же мышьяной дозе (200 мкг), что и в гриппозной вакцине.

Гриппозно-аденовирусная дивакцина представляла собой смесь равных объемов гриппозной (H5N1) и аденовирусной вакцин. Поэтому в одной мышьяной дозе дивакцины содержание вирусных антигенов и кораубана было вдвое ниже, чем в моновакцинах. Моновакцины объединяли непосредственно перед иммунизацией животных.

Мукозальная иммунизация. Использовали белых нелинейных и линейных (BALB/c) мышей-самцов массой 12–18 г. В каждом конкретном опыте разница в массе тела животных не превышала 4 г, а в группе – 2 г. Животных иммунизировали интраназально под легким наркозом или орально-лингвально без наркоза. Испытуемые вакцины вводили в объеме 50 мкл. При орально-лингвальной иммунизации материал вводили медленно, микрокаплями 3 порциями

в течение 2–3 мин. Ранее нами было показано, что в этих условиях соблюдается точность дозирования и лишь незначительная часть орально введенного вещества (около 15%) попадает в пищевод и желудок в результате смыывания слюной и последующего заглатывания [8]. Мышей иммунизировали 1–3 раза с интервалом 7 сут.

Эффективность иммунизации оценивали на различных сроках (1–28 сут) после окончания вакцинации: по уровню защиты животных от летальной гриппозной инфекции (ГРИПКОР), по динамике нарастания количества антител в смывах нижних дыхательных путей и сыворотках крови (ГРИПКОР, Ад-вакцина, дивакцина), по концентрации интерферона в экстрактах тканей легких и сыворотках крови (ГРИПКОР). Количественную оценку содержания секреторных и сывороточных антител определяли общепринятыми методами (РТГА, РНГА, ИФА) [13–16] спустя 2 нед после окончания цикла иммунизации. Активность интерферона определяли колориметрически по модифицированному методу Финтера [1] с использованием мышины клеточной линии L-929 и индикаторного парагриппозного вируса Сендай.

Статистическую обработку результатов проводили методом определения среднего квадратичного отклонения (σ) от средней величины (M). Для оценки достоверности полученных данных определяли средние ошибки (m) средней величины. При этом использовали критерий t Стьюдента для малых выборок. Полученные различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Защита мышей от летальной гриппозной инфекции. Как видно из данных рис. 1, даже 1-разовая интраназальная иммунизация мышей вакциной ГРИПКОР эффективно защищает животных от летальной гриппозной инфекции. Введение вакцины на слизистые оболочки дыхательных путей формирует у животных невосприимчивость к 100 ЛД₅₀ не только к гомологичному (H3N2), но и к гетерологичному (H1N1) по отношению к иммуногену вирусу. Характерно, что уже через 1 сут после введения вакцины зараженные животные становятся защищенными от летальной вирусной инфекции. Штаммоспецифическая и гетеросубтипическая устойчивость мышей к вирусу гриппа наблюдается на всех сроках эксперимента. Выраженную защищенность на ранних сроках обеспечивает также интраназальное введение одного кораубана (КА). Более высокие показатели эффективности защиты мышей от летальной гриппозной инфекции с помощью интраназальной вакцины ГРИПКОР по сравнению с показателями,

полученными при введении ее компонентов ИГВ и КА, достоверны ($p < 0,05$).

Гетерологичная защита в этих опытах выявлена по отношению к вирусу гриппа типа А, но не ясно, распространяется ли данный феномен на вирус типа В. В аналогичном опыте, в котором мышей иммунизировали испытуемой вакциной ГРИПКОР, содержащей инактивированный вирус А/Аичи/2/68 (H3N2), а инфицировали после иммунизации вирусом В/Ли/40, выявили достоверную устойчивость мышей к летальной дозе вируса на 1-е сут после интраназального введения вакцины и не наблюдали на более поздних сроках (7, 14 сут) после иммунизации. Полученные данные свидетельствуют о том, что устойчивость мышей, иммунизированных вакциной ГРИПКОР, в ранние сроки обусловлена факторами неспецифической резистентности, а в поздние – специфическим иммунитетом. Насколько связана выявленная неспецифическая резистентность с интерфероном, а специфическая устойчивость с секреторными и сывороточными антителами, выясняли в последующих экспериментах.

Формирование антител (секреторных, сывороточных) и интерферона у животных, интраназально иммунизированных вакциной ГРИПКОР. Динамика накопления секреторных (sIgA) и общего пула сывороточных антител после 1-разовой интраназальной иммунизации вакциной ГРИПКОР, приготовленной из вируса А/Аичи/2/68 (H3N2) и кораубана, приведена на рис. 2. Иммунизация сопровождалась существенным накоплением секреторных и сывороточных антител, начиная с 7-х сут после однократного введения вакцины. На всех сроках наблюдения титры секреторных и сывороточных антител были в 3–6 раз выше у мышей, иммунизированных вакциной ГРИПКОР, чем у животных, которым вводили ее специфический компонент – ИГВ без кораубана. Следовательно, добавление кораубана в ИГВ при активной интраназальной иммунизации животных вызывает отчетливый адьювантный эффект, направленный на усиление антителогенеза.

Положительные качества сочетания цельновирионной ИГВ и кораубана в одном препарате были выявлены также при определении интерферона в гомогенатах тканей легких и сыворотках крови иммунизированных мышей. На рис. 3 представлены данные количественного содержания общего интерферона (α , β , γ) в гомогенатах легких животных в различные сроки после интраназального введения вакцины ГРИПКОР и отдельных ее компонентов – ИГВ, кораубана. Сочетание в одном препарате ИГВ и кораубана дает отчетливый эффект супериндукции синтеза общего интерферона. Высокая концентрация интерферона установлена спустя 1 сут (220 МЕ/мл), а максимальная – через 2 сут (390 МЕ/мл) после 1-

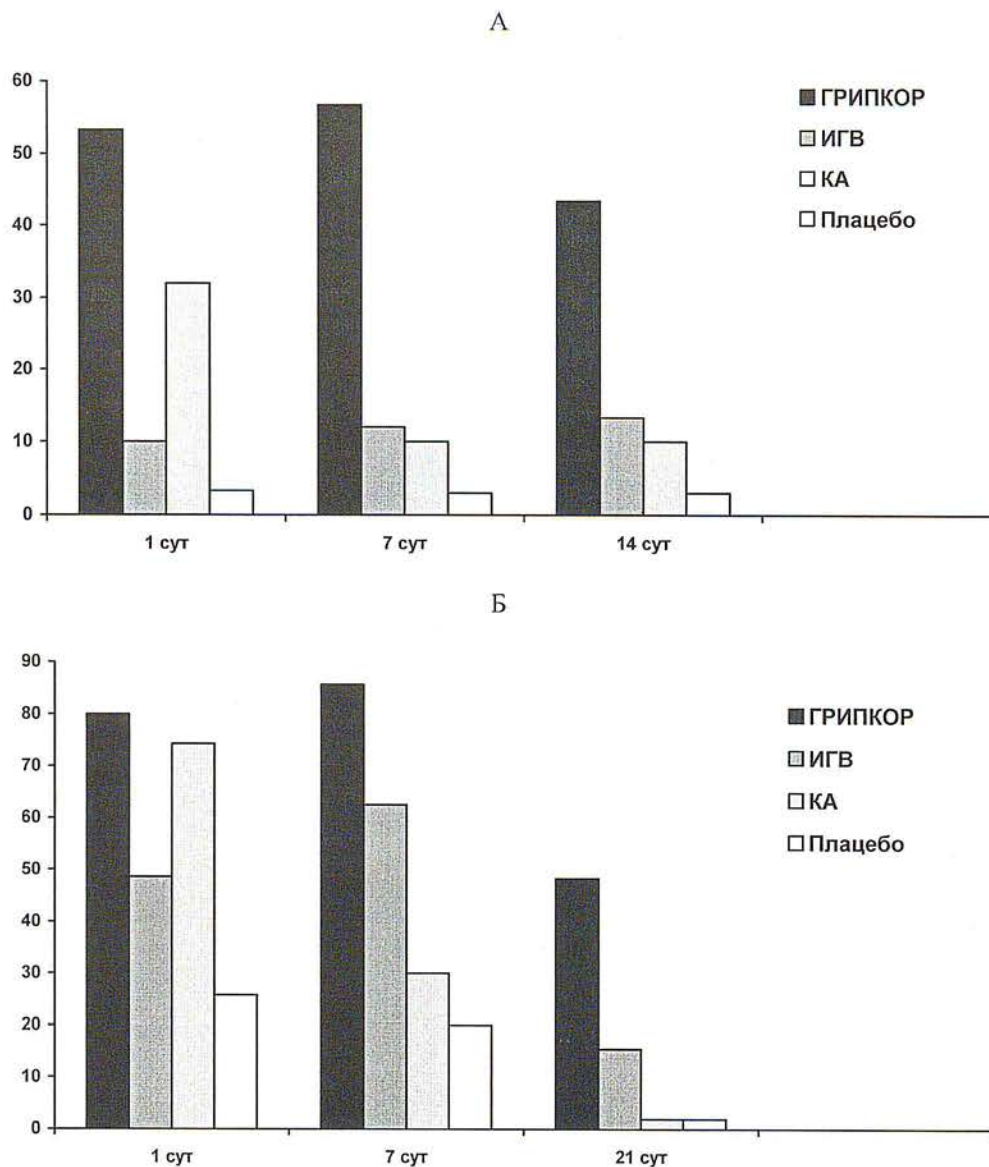


Рис. 1. Эффективность защиты мышей от летальной гриппозной инфекции с помощью интраназальной вакцины ГРИПКОР, приготовленной из вируса гриппа А/Аичи/2/68 (H3N2) и кораубана, при заражении гомологичным (А) или гетерологичным вирусом (Б).

По оси ординат – процент выживших мышей. По оси абсцисс – заражение мышей на различных сроках после иммунизации (сутки). Исследования проводили на нелинейных белых мышах, вакцину и ее компоненты (ИГВ, КА) вводили 1-кратно, каждая группа состояла из 30 животных. Одна мышьяная доза вакцины ГРИПКОР содержала 1000 ГАЕ инактивированного вируса и 200 мкг кораубана. Защищенность животных от 100 ЛД₅₀ гомологичного вируса А/Аичи/2/68 (H3N2) или гетерологичного вируса А/PR/8/34 (H1N1) оценивали в течение 10 дней после заражения. Различия показателей групп ГРИПКОР с показателями групп ИГВ и КА достоверны, $p < 0,05$

разовой иммунизации. Комбинация вакцины и кораубана приводит и к более длительной (4 сут) циркуляции повышенных концентраций интерферона в тканях легких. Учитывая, что интерферон является фактором неспецифической резистентности к вирусу гриппа, эти результаты хорошо согласуются с приведенными выше данными (см. рис. 1) о ранней гомологичной и гетерологичной устойчивости подопытных мышей к летальной гриппозной инфекции.

Интраназальное введение испытуемой вакцины приводило к существенному повышению уровня интерферона и в сыворотках крови подопытных

животных. Были получены результаты, сходные с описанными выше (см. рис. 3). Выявлен синергизм интерферогенного действия компонентов вакцины ГРИПКОР – ИГВ и кораубана.

Идентификация типов индуцированного интерферона показала, что в условиях интраназальной иммунизации в тканях легких и сыворотках накапливается преимущественно интерферон II типа (γ). Причем удельное содержание его по сравнению с интерфероном I типа (α , β) постепенно нарастает, начиная с 1 сут и заканчивая 3 сут наблюдения.

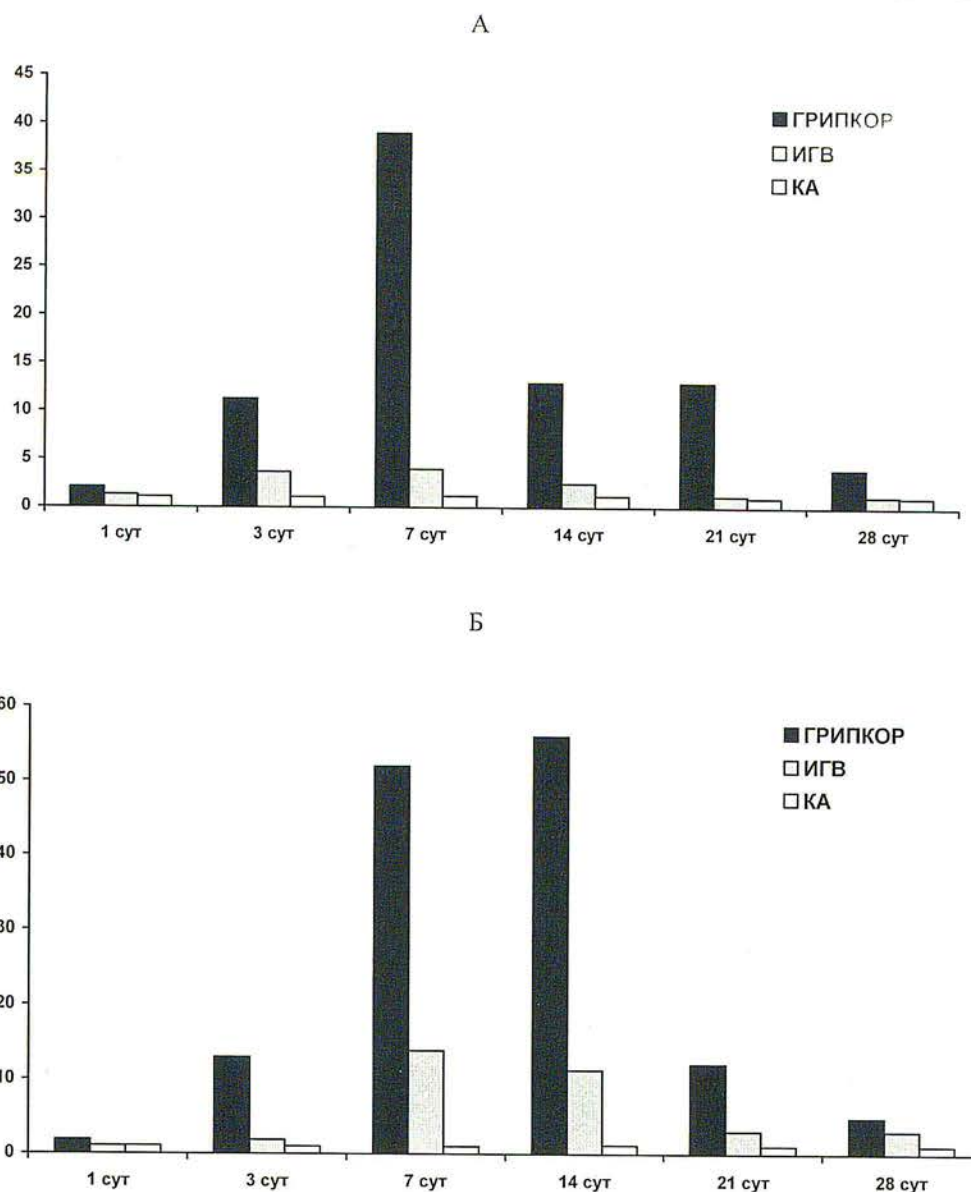


Рис. 2. Накопление антител в секретах дыхательных путей (А) и сыворотках крови (Б) мышей, иммунизированных интраназально вакциной ГРИПКОР и ее компонентами (ИГВ, КА).

По оси ординат – среднегеометрический титр антител. По оси абсцисс – сутки после иммунизации. Исследование проводили на нелинейных белых мышах, каждая группа состояла из 11 животных. Вакцину готовили из инактивированного вируса А/Ленинград/289/83 (H3N2), вводили 1-кратно. Одна мышинная доза вакцины содержала 1000 ГАЕ вируса и 200 мкг кораубана. Количественную оценку содержания гуморальных антител проводили в РТГА, а секреторных – в РНГА. Различия показателей групп ГРИПКОР с показателями групп ИГВ и КА достоверны, $p < 0,05$

Оценка орально-лингвального способа иммунизации вакциной ГРИПКОР. Предварительно было установлено, что 1-разовая орально-лингвальная иммунизация мышей вакциной ГРИПКОР недостаточна для индукции достоверного накопления сывороточных и секреторных антител у животных. Ниже приведены результаты, полученные после 3-разовой (с интервалами 7 сут) орально-лингвальной иммунизации мышей линии BALB/c испытуемой вакциной. Вакцина содержала вирионы штаммов А/Новая Каледония/20/99 (H1N1) или А/NIBRG-14 (H5N1) и кораубан. Для вакцины с антигенной формулой H5N1

применяли также интраназальное введение препарата (положительный контроль).

При орально-лингвальном 3-разовом введении мышам вакцины ГРИПКОР (H1N1) через 14 сут после окончания иммунизации выявлено более чем 4-кратное увеличение титров секреторных sIgA к гомологичному вирусу по сравнению с титрами, выявленными у мышей из группы плацебо (1:350 и 1:80 соответственно), и более чем 4-кратное увеличение титров общего пула сывороточных антител к гомологичному вирусу по сравнению с контролем (плацебо). Эффективность многократных орально-

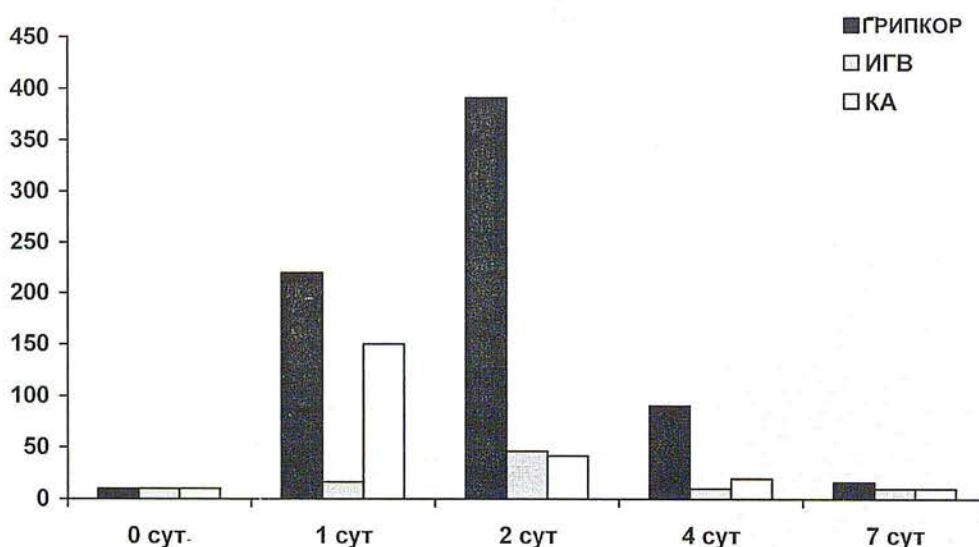


Рис. 3. Концентрация интерферона в гомогенатах ткани легких мышей, иммунизированных интраназально вакциной ГРИПКОР и ее компонентами (ИГВ, КА).

По оси ординат – средняя арифметическая концентрация общего интерферона в МЕ/мл. По оси абсцисс – сутки после иммунизации. Вакцину готовили из инактивированного вируса А/Ленинград/289/83 (H3N2), вводили 1-кратно. Каждая группа состояла из 10 животных. Одна мышьяная доза вакцины содержала 1000 ГАЕ вируса гриппа и 200 мкг кораубана. Различия показателей групп ГРИПКОР с показателями групп ИГВ и КА достоверны, $p < 0,05$

лингвальной и интраназальной иммунизаций (H5N1) животных существенно не различалась. В условиях этих вариантов мукозальной иммунизации не было выявлено достоверных различий в приросте секреторных и сывороточных антител в группах мышей, получивших вакцину ГРИПКОР или только один ее компонент – ИГВ без кораубана. По-видимому, многократное мукозальное введение вакцины приводит к нивелированию результатов иммунизации и не позволяет выявить преимуществ адьювантного действия кораубана.

Иммуногенность гриппозно-аденовирусной дивакцины и соответствующих моновакцин при мукозальных способах введения (интраназальный, орально-лингвальный). Мышей иммунизировали 2 раза с интервалом в 7 сут интраназально или орально-лингвально дивакциной, моновакцинами (препараты сравнения) или плацебо (негативный контроль). Через 2 нед после окончания цикла иммунизации оценивали количественное содержание секреторных антител в бронхиальных смывах, используя РНГА (в отрицательных \log_2)

По результатам эксперимента (рис. 4) выявлено 3–4-кратное нарастание титров секреторных антител у мышей, иммунизированных интраназально гриппозной вакциной H5N1 без адьюванта ($4,6 \log_2$) и с адьювантом ($5,0 \log_2$), по сравнению с контролем (плацебо). При орально-лингвальном способе иммунизации – соответственно $4,0 \log_2$ и $4,5 \log_2$. При интраназальном использовании Ад-моновакцины без адьюванта увеличение содержания секреторных

антител составило $2 \log_2$ (в плацебо меньше 1,0), а с адьювантом – $3,0 \log_2$; при орально-лингвальном – $3,0 \log_2$ без адьюванта и $3,7 \log_2$, если вакцина вводилась с адьювантом.

Интраназальное введение мышам гриппозно-аденовирусной дивакцины без адьюванта приводило к 4-кратному (по сравнению с плацебо – $1,0 \log_2$) приросту титров секреторных антител к H5N1 (дивакцина – $4,5 \log_2$, моновакцина – $4,6 \log_2$), а орально-лингвальная иммунизация без адьюванта соответственно: дивакцина – $4,0 \log_2$, моновакцина – $4,0 \log_2$. То есть, несмотря на половинную дозу гриппозного антигена, введенного мышам мукозально в составе дивакцин, такая иммунизация позволяла сохранить выработку антител на уровне, обеспечиваемом соответствующей моновакциной. Выработка секреторных антител к Ад-вирусу при различных способах мукозальной иммунизации мышей дивакциной вдвое превышала титры секреторных антител после введения Ад-моновакцины (при интраназальном введении моновакцины без адьюванта титр антител составил $2,0 \log_2$, после введения дивакцины без адьюванта – $3,5 \log_2$; при орально-лингвальном способе введения дивакцины значения составили $3,0 \log_2$ и $4,2 \log_2$ соответственно). Наблюдаемое в эксперименте повышение антигенной активности моновакцин в составе дивакцины без кораубана ($p < 0,05$) может свидетельствовать о наличии взаимного адьювантного воздействия их друг на друга. В условиях 2-разовой мукозальной иммунизации мышей довольно высокими дозами гриппозно-аденовирусной дивакцины

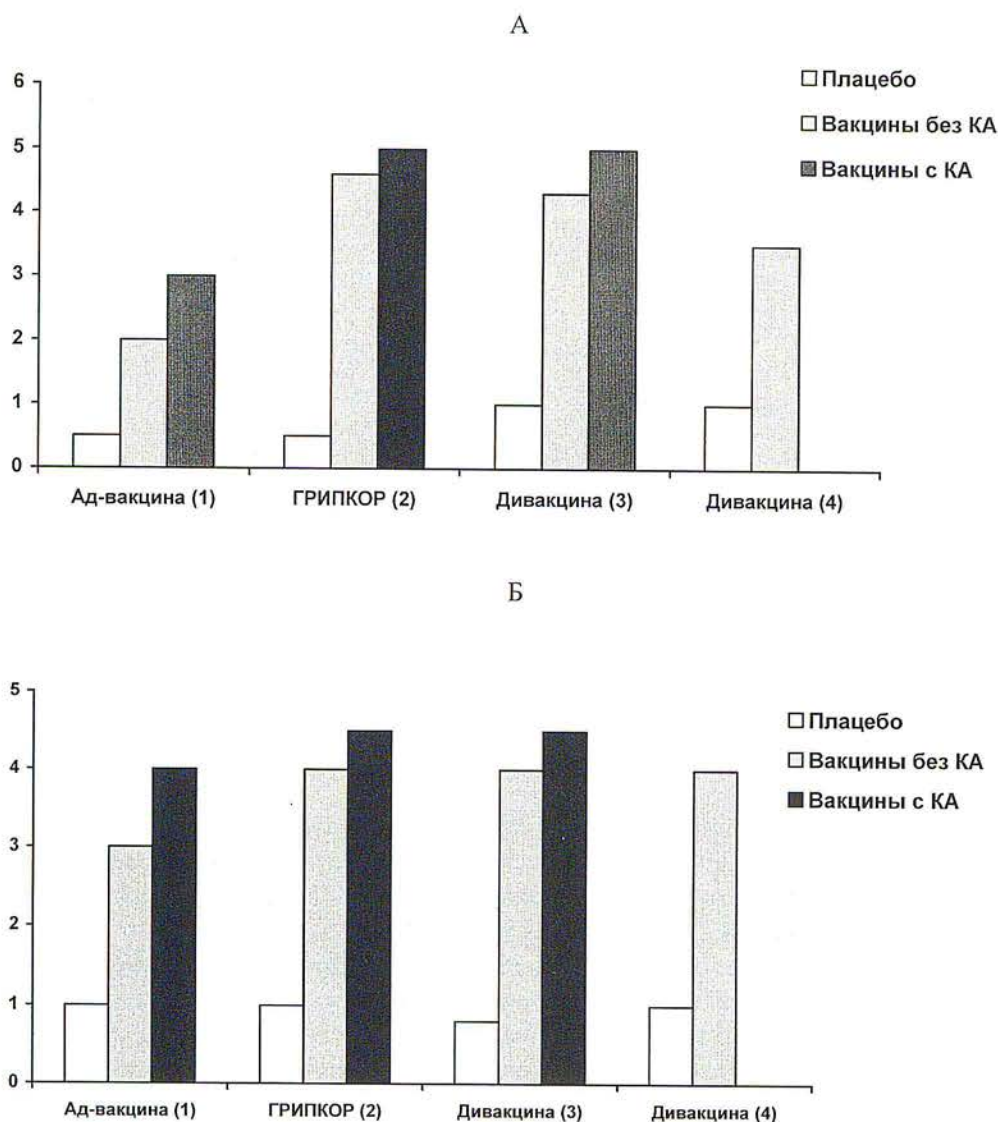


Рис. 4. Накопление антител в секретах дыхательных путей мышей, иммунизированных интраназально (А) или орально-лингвально (Б) гриппозно-аденовирусной дивакциной и соответствующими моновакцинами.

По оси ординат – титры секреторных антител в отрицательных \log_2 через 14 сут после окончания цикла 2-кратной иммунизации. По оси абсцисс – группы животных (по 12–18 в каждой), иммунизированных различными вариантами инактивированных вакцин, сравниваемые по показателям индукции антител: (1) – Ад-вирус, (2) – вирус гриппа H5N1, (3) – вирус гриппа H5N1 в составе дивакцины, (4) – Ад-вирус в составе дивакцины. Количественную оценку содержания секреторных антител проводили в РНГА. Различия показателей групп животных, получивших дивакцину или моновакцины, с показателями групп контроля (плацебо) достоверны ($p < 0,05$)

или соответствующими моновакцинами не выявлено значительного преимущества вакцин с кораубаном по сравнению с вакцинами, не содержащими его.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Первые исследования по обоснованию использования индукторов интерферона в качестве мукозального адъювантного компонента цельновирионной ИГВ выполнены в ГУ НИИ гриппа РАМН группой ученых под руководством Шварцмана Я. С. и Исполатовой А. В. [7, 13, 14]. Из 27 испытанных интерферогенов оптимальными оказались липополисахарид

брюшнотифозных бактерий и полисахарид (глюкан, кораубазидан, кораубан), полученный из основной цепи (кор) аубазидана, продуцируемого внеклеточно апатогенным грибом *Aureobasidium Pullulans*. Для комплексной мукозальной стимуляции противогриппозного иммунитета в дальнейшем был выбран кораубан. В последние годы разработаны лабораторный регламент изготовления кораубана, фармакопейная статья с показателями и методами его контроля. Кораубан, как адъювантный компонент мукозальной ИГВ, успешно прошел Государственную токсикологическую экспертизу [9].

Сравнение результатов экспериментального интраназального применения традиционной цельновирионной ИГВ и вакцины ГРИПКОР (ИГВ+кораубан) показало более высокую эффективность последней. Установлено, что введение в состав ИГВ оригинального адьюванта придает вакцине принципиально новые свойства, связанные с индукцией широкого спектра гетеротипической (к вирусам гриппа типов А и В) защитной активности в первые дни после 1-разовой вакцинации, а также субтипической и гетеросубтипической (к вирусам гриппа типа А, подтипов Н1 и Н3) – в поздние сроки после этой иммунизации. Ранняя устойчивость иммунизированных мышей к летальной гриппозной инфекции обусловлена активацией синтеза интерферона, а поздняя – активацией секреторных и сывороточных антител. Причем сочетание в вакцине кораубана и инактивированных вирионов гриппа приводит к синергизму их действия, проявляющемуся в увеличении синтеза общего интерферона в несколько раз по сравнению с интерферогенным действием одних вирионов или кораубана, а также в существенной стимуляции антителогенеза в системах местного (секреторных антител) и общего (сывороточных антител) иммунитета.

Показана также высокая эффективность орально-лингвального способа иммунизации мышей испытываемыми гриппозными вакцинами, что выявлялось в высоких уровнях секреторных и сывороточных антител к гомологичным вирусам (H1N1, H5N1) у вакцинированных животных. Но для существенной стимуляции эффективного иммунного ответа было недостаточно 1-разовой иммунизации. Положительный эффект был выявлен лишь после 2–3-разового орально-лингвального введения вакцин. В то же время оказалось, что увеличение кратности такой вакцинации приводило к нивелированию результатов иммунизации животных, получавших цельновирионные ИГВ с адьювантом или без него. То есть преимущество адьювантного действия кораубана при увеличении кратности прививок становилось менее заметным. Это обстоятельство свидетельствует о том, что для успешного орально-лингвального применения вакцины ГРИПКОР нужно оптимизировать величину мышинной дозы вакцины, ориентируясь на перспективу уменьшения кратности иммунизации.

В настоящее время на основе коммерческой трехвалентной ИГВ и полученного в лабораторных условиях кораубана разработана технология изготовления и первичная нормативно-техническая документация на жидкую форму интраназальной вакцины ГРИПКОР. Завершена Государственная экспертиза опытных партий препарата, отчетных материалов его доклинических исследований и других документов. Получено разрешение Национального комитета по этике на проведение клинических испытаний вакци-

ны, приготовленной из новых актуальных вакцинных штаммов. Клинические испытания (1, 2 фазы) вакцины ГРИПКОР пока не начаты из-за негативных финансовых и организационных обстоятельств, связанных с получением опытно-промышленных серий препарата.

Мы полагали, что кроме гриппа мукозальная иммунизация инактивированными вакцинами может быть эффективна и для профилактики других острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ). Была выбрана Ад-инфекция, которая по массовости в группе ОРВИ уступает только гриппу, а в период гриппозных эпидемий Ад-вирусы часто являются причиной микст-инфекций [19]. Входными воротами для обеих инфекций служит носоглотка, даже скорее глотка, так как оба заболевания обычно начинаются с ее воспаления без проявления насморка или заложенности носа. Исходили также из предпосылки, что в перспективе инактивированная мукозальная Ад-вакцина может обладать широким спектром защитной активности, если в качестве антигена использовать основной протективный вирусный антиген – гексон. В медицинской практике антигексоновый сывороточный иммуноглобулин успешно применяется для выявления различных серотипов Ад-вирусов в реакциях связывания комплемента, иммунофлуоресценции и РНГА, а по данным экспериментальных исследований, аденовирусная антигексоновая сыворотка способна нейтрализовать инфекционную активность различных серотипов этих вирусов [6, 19].

В экспериментах была установлена довольно высокая иммуногенность гриппозно-аденовирусной дивакцины и соответствующих моновакцин при мукозальной (интраназальной, орально-лингвальной) 2-разовой иммунизации мышей. Выявляли 3–4-кратное нарастание титров секреторных антител у вакцинированных животных по сравнению с группами негативного контроля (плацебо). Выраженный прирост антител наблюдали к обоим специфическим антигенным компонентам инактивированной мукозальной дивакцины – и к вирусу гриппа А (H5N1), и к Ад-вирусу. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности как интраназального, так и орально-лингвального способов введения инактивированных гриппозно-аденовирусной дивакцины и соответствующих моновакцин. Они подтверждают возможность создания комбинированных препаратов для одновременной мукозальной вакцинопрофилактики гриппа и других ОРВИ.

Литература

1. Аксенов О. А., Мурина Е. А. Способ индикации интерферона в биологических пробах: Патент РФ № 2093179. 1997.

2. Вопросы общей вирусологии: учебное пособие / под ред. О. И. Киселева, И. Н. Жилинской. СПб.: СПбГМА им. И. И. Мечникова, 2007. 374 с.
3. Воробьев А. А. Современные направления в разработке новых иммунобиологических препаратов // Журн. микробиол. 1999. № 5. С. 16–21.
4. Гендон Ю. З. Прогресс в разработке вирусных полинуклеотидных (ДНК) вакцин // Вопр. вирусол. 1999. № 4. С. 148–154.
5. Гендон Ю. З. Мукозальные вирусные вакцины: успехи и проблемы // Вопр. вирусол. 2003. № 4. С. 4–10.
6. Зайцев Ф. Н., Корнеева Э. П., Степанова Л. А. и др. Перспективы создания мукозальной инактивированной аденовирусной вакцины с широким спектром защитной активности // Матер. конф. «Актуальные вирусные инфекции – теоретические и практические аспекты». СПб., 2004. С. 53.
7. Исполатова А. В., Шапиро Н. И., Цыбульская Н. В. и др. Комплексный препарат для профилактики гриппа // Сб. науч. тр. «Комплексная профилактика гриппа» / под ред. Э. П. Корнеевой. Л., 1981. С. 56–64.
8. Коротков А. В., Мигунов А. И., Гагинская О. В. и др. Метод орального введения веществ при доклинических испытаниях лингвальных препаратов на мелких лабораторных животных // Матер. конф. «Актуальные вирусные инфекции – теоретические и практические аспекты». СПб., 2004. С. 50–51.
9. Кузнецов О. К., Мигунов А. И., Иозеп А. А. и др. Ко-раубан – новый перспективный мукозальный адьювант для вирусных вакцин // Матер. конф. «Актуальные вирусные инфекции – теоретические и практические аспекты». СПб., 2004. С. 50.
10. Маркушин С. Г. Молекулярные механизмы действия мукоадгезивных адьювантов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2004. № 5. С. 43–47; № 6. С. 51–52; № 7. С. 55–59.
11. Мигунов А. И., Кузнецов О. К., Киселев О. И. Использование липосом для конструирования вакцин // Вопр. вирусол. 2001. № 2. С. 4–7.
12. Степанова Л. А., Мигунов А. И., Коротков А. В., Кузнецов О. К. Научные основы и перспективы создания мукозальных инактивированных гриппозных вакцин // Мед. акад. журн. 2006. № 4. С. 3–16.
13. Цыбульская Н. В., Исполатова А. В., Иванников Ю. Г. и др. Формирование гетеротипической устойчивости к вирусу гриппа А // Иммунология. 1987. № 1. С. 59–61.
14. Шварцман Я. С., Исполатова А. В., Цыбульская Н. В. и др. Иммунизация комплексным препаратом – новый метод профилактики гриппа, обоснование применения комплексного препарата для профилактики гриппозной инфекции // Вопр. вирусол. 1982. № 2. С. 14–18.
15. Шварцман Я. С., Корнеева Э. П., Тарос Л. Ю., Найхин А. Н. Серодиагностика гриппа с помощью реакции непрямой гемагглютинации // Acta virologica. 1977. Т. 21. С. 228–233.
16. Hocart M. J., Mackenzie J. S., Stewart G. A. Serum IgG subclass responses of humans to inactivated and live influenza A vaccines compared to natural infections with influenza A // J. Med. Virol. 1990. Vol. 30. № 2. P. 92–96.
17. Kitchen L. W., Vaughn D. W. Role of U. S. military research programs in the development of U. S.-licensed vaccines for naturally occurring infectious diseases // Vaccine. 2007. Vol. 25. P. 7017–7030.
18. Russell K. L., Hawksworth A. W., Ryan M. A. K. et al. Vaccine-preventable adenoviral respiratory illness in US military recruits // Vaccine. 2006. Vol. 24. P. 2835–2842.
19. Wadell G. Adenoviruses // Principles and Practice of Clinical Virology. 4-th edition. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester etc., 2000. P. 307–327.

Представлена академиком РАМН О. И. Киселевым

ГЕНДЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ В МЕТИЛИРОВАНИИ 5'-ФЛАНКИРУЮЩЕЙ ОБЛАСТИ ГЕНА *DUSP9* У БОЛЬНЫХ СО СВЕТЛОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМОЙ ПОЧКИ

Академик РАМН ГРАНОВ А. М., ЯКУБОВИЧ Е. И., ЛАВНИКЕВИЧ Д. М.,
ЕВТУШЕНКО В. И.

ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»,
Санкт-Петербург

Гранов А. М., Якубович Е. И., Лавникевич Д. М., Евтушенко В. И. Гендерные различия в метилировании 5'-фланкирующей области гена *DUSP9* у больных со светлоклеточной карциномой почки // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 55–61. ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи», Санкт-Петербург, 197758.

Ген *DUSP9* расположен в хромосомном локусе Xq28 и кодирует протеиновую фосфатазу МКР-4 из семейства биспецифических протеиновых фосфатаз, которая обладает характеристиками опухолевых супрессоров. Ранее мы показали, что в клетках светлоклеточной карциномы происходит подавление экспрессии гена *DUSP9* на транскрипционном уровне, однако механизм репрессии пока не известен. Как известно, довольно часто причиной инактивации опухолевосупрессорных генов в процессе карциногенеза является гиперметилирование их промоторной области. В данной работе мы оценили роль метилирования в подавлении транскрипционной активности гена *DUSP9* в карциномных клетках почки, для чего проанализировали статус метилирования 5'-фланкирующей области этого гена в 27 парных образцах опухолевой и прилежащей условно нормальной ткани почки, используя метод амплификации бисульфитмодифицированной ДНК с последующей рестрикцией (COBRA) [35]. Были обнаружены гендерные различия в уровне метилирования ДНК гена *DUSP9* в опухолевой ткани почки. У 5 из 9 женщин (56%) в опухолевой ткани было выявлено увеличение степени метилирования 5'-фланкирующей области гена по сравнению с нормальной, в то время как у всех 18 мужчин метилированных аллелей ни в нормальной, ни в опухолевой ткани детектировано не было. Полученные результаты подтверждают предположение о том, что эпигенетическая модификация может быть вовлечена в инактивацию экспрессии гена *DUSP9* в опухолевом генезе почки. Тем не менее эти же результаты свидетельствуют о существовании других механизмов, контролирующих транскрипционную активность этого гена в почечной ткани.

Ключевые слова: экспрессия генов, метилирование ДНК, рак почки, ген *DUSP9*.

Granov A. M., Yakubovich E. I., Lavnikovich D. M., Evtushenko V. I. Gender difference in methylation of 5' region of *DUSP9* in clear-cell carcinoma of kidney // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 3. P. 55–61. Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health and Social Development. St. Petersburg, 197758.

The *DUSP9* gene, located on chromosome Xq28, encodes a dual specificity protein phosphatase MKP-4. A recent study could indicate a tumor suppression function of this phosphatase. Previously, we have shown the down-regulation of *DUSP9* expression in renal clear cell carcinomas, but the mechanism of *DUSP9* silencing is unclear. It is known that aberrant promoter hypermethylation of tumor suppressor genes occurs frequently during the pathogenesis of human cancer. In this study we explored whether the methylation of *DUSP9* CpG sites is associated with loss of *DUSP9* expression. Using combined bisulfite restriction analysis (COBRA) we compared methylation status of 5' region of *DUSP9* in 27 paired tissue samples obtained from primary kidney tumors and corresponding normal tissues (18 samples were from male and 9 samples were from female patients). We have found the gender difference in methylation of 5' region of *DUSP9* in renal tumors. The increased methylation in tumor samples compared to paired normal samples were detected in 58% of the female patients (8/9), whereas all 18 male patients samples had unmethylated DNA status. Our results suggest that methylation of *DUSP9* CpG sites may be associated with the loss of expression of this gene in kidney cancer cells. However, since the methylation frequency was low in male patients we concluded that the epigenetic silencing of *DUSP9* by DNA methylation is not common and other mechanisms could be responsible for the loss of the expression of this gene in primary clear cell renal tumors.

Key words: gene expression, DNA methylation, renal-cell carcinoma, *DUSP9* gene.

К 90-летию со дня основания
ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»

Опухоли почки характеризуются многообразием нозологических форм. Согласно последней классификации, принятой ВОЗ, только карцином почки различают до десяти вариантов. Каждый гистологический тип имеет свои патоморфологические осо-

бенности, отличается по клиническому течению и прогнозу и требует адекватного подхода к выбору терапии. Многочисленные данные молекулярно-генетических исследований доказывают, что в основе возникновения и развития разных типов опухолей

почки лежат различные молекулярные механизмы. Для того чтобы научиться диагностировать и дифференцировать новообразования почки на ранних стадиях, а также разработать новые методы лечения с учетом характерных особенностей каждого типа опухоли, необходимо детально изучить эти молекулярные механизмы.

В предыдущих работах нами были получены молекулярные портреты карциномы почки и выявлены кластеры коэкспрессирующихся генов, позволяющих дифференцировать опухоли с высоким уровнем пролиферации и васкуляризации [2]. Позднее мы подтвердили инактивацию одного из этих генов, *DUSP9*, в процессе опухолевого генеза почки, проанализировав его экспрессию в парных образцах опухолевой и прилежащей условно нормальной ткани почки пациентов с диагнозом светлоклеточная карцинома методом полимеразной цепной реакции, сопряженной с обратной транскрипцией [1].

Ген *DUSP9* локализован в локусе Xq28 и кодирует протеинфосфатазу МКР-4. Эта фосфатаза принадлежит к семейству биспецифических протеиновых фосфатаз, которые являются негативными регуляторами MAP-киназных каскадов, участвующих в передаче митогенных сигналов внутри клетки [24]. Функциональная роль этой фосфатазы в нормальном развитии пока мало изучена. Известно, что ген *DUSP9* имеет ограниченный характер экспрессии (плацента, эмбриональная печень и почки), и что делеция гена *DUSP9* у мышей приводит к эмбриональной летальности, причиной которой является плацентарная недостаточность [6]. Недавно было показано, что МКР-4 контролирует процесс формирования системы микротрубочек в клетке [22]. Экспериментальные данные, полученные *in vitro*, свидетельствуют о том, что ген *DUSP9* может быть опухолевым супрессором [24].

В настоящее время ничего не известно о молекулярных механизмах, регулирующих экспрессию *DUSP9*. В опубликованной литературе мы не нашли никаких данных о существовании каких-либо генетических изменений (мутаций, делеций, хромосомных перестроек) в области локализации *DUSP9*, которые были бы ассоциированы с карциномой почки. Поэтому мы предположили, что в инактивацию экспрессии гена *DUSP9* в опухолевых клетках почки может быть вовлечен эпигенетический механизм.

Известно, что под контролем эпигенетических факторов у высших эукариот находятся важнейшие биологические процессы, включая дифференцировку, инактивацию одной из X-хромосом у особей женского пола, а также импринтинг генов [19, 27, 9]. Ключевой эпигенетической модификацией у млекопитающих является метилирование 5-метилцитозина в составе кластеров 5'-CpG-3'-динуклеотидов,

называемых CpG-островками [8]. Наиболее часто CpG-островки локализованы в области промотора и первого экзона гена. Дифференциальный характер метилирования ДНК определяет транскрипционную активность генов в клетке: гиперметилирование CpG-островков подавляет экспрессию, и, напротив, гипометилирование активирует экспрессию гена. Нарушение профиля метилирования ДНК в клетке ассоциировано со многими патологическими процессами [29]. Аберрантное метилирование выявлено при разных онкологических заболеваниях, в том числе и при раке почки [7, 10, 32, 17, 15, 11].

Для того чтобы оценить роль метилирования в подавлении транскрипционной активности гена *DUSP9* в клетках карциномы почки, мы проанализировали статус метилирования 5'-фланкирующей области этого гена в 27 парных образцах опухолевой и прилежащей условно нормальной ткани почки, используя метод амплификации бисульфитмодифицированной ДНК с последующей рестрикцией, так называемый метод COBRA [35].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опухолевые образцы и выделение ДНК. Парные образцы первичной опухоли и прилежащей к ней условно нормальной ткани почки были предоставлены отделением Эндovasкулярной урологии ФГУ РНЦ РХТ (Санкт-Петербург). Сразу же после нефрэктомии образцы были заморожены в жидком азоте. Гистологический анализ препаратов был выполнен сотрудниками патоморфологического отделения института.

Для выделения ДНК ткань лизировали при 50°C в течение ночи в буфере, содержащем 20 мМ ТрисНСl pH 8.0, 5 мМ ЭДТА pH 8.0, 100 мМ NaCl, 1% SDS и протеиназу К (50 мкг/мл). После фенолхлороформной экстракции ДНК осаждали спиртом. Концентрацию выделенной ДНК определяли с помощью спектрофотометра GeneQuant (Pharmacia Biotech, Швеция).

Бисульфитная модификация ДНК. Перед бисульфитной модификацией ДНК гидролизовали рестриктазой EcoRI. После фенолхлороформной экстракции ДНК осаждали спиртом, растворяли в воде и спектрофотометрически оценивали концентрацию. Качество ДНК проверяли с помощью ПЦР с праймерами, фланкирующими исследуемую последовательность (прямой праймер – 5'- GTTGCGCCAGTCCTCAATG-3', обратный – 5'-GTGTTGGAAGCGTGCCTGTG).

Бисульфитную модификацию проводили с использованием набора methylSEQr™ (Applied Biosystems), следуя протоколу. Кратко, 250 нг гидролизованной ДНК денатурировали и инкубировали с бисульфитом при 50 °C в течение ночи. Затем мо-

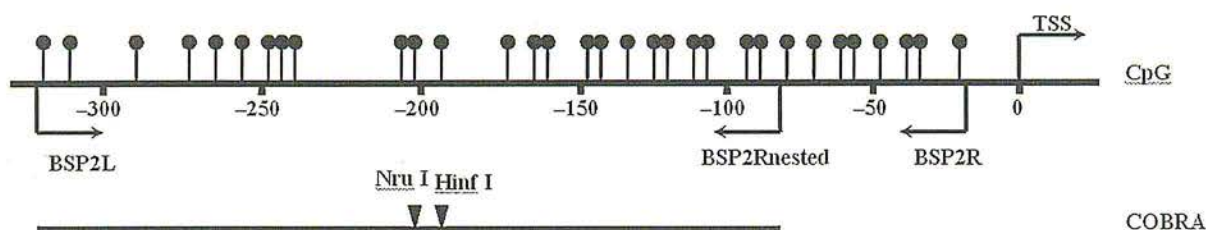


Рис. 1. Участок 5'-фланкирующей области гена *DUSP9*: CpG – динуклеотиды; TSS – сайт инициации транскрипции; BSP2L, BSP2R – внешние праймеры для полугнездной ПЦР; BSP2Rnested – внутренний праймер для полугнездной ПЦР. Исследуемый продукт амплификации обозначен сплошной линией, на ней отмечены сайты рестрикции *Nru I* и *Hinf I*

дифицированную ДНК очищали на колонках, элюировали в 50 мкл TE и хранили до использования при +4°C.

Амплификацию модифицированной ДНК проводили в 2 раунда (полугнездная ПЦР). Праймеры к модифицированной последовательности были подобраны с помощью программы Methyl Primer Express 1.0 (Applied Biosystems).

1-й раунд:

2 мкл модифицированной ДНК вносили в реакционную смесь (общий объем 50 мкл), содержащую 5 мкл 10x буфера для Taq-полимеразы, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM дНТФ, 0.4 мкМ каждого праймера (BSP2L (прямой): 5'-ATTGGTTTAGA GAATAGAGGTTTGT -3'; BSP2R (обратный): 5'-AACACCACTACTACAACCTAAC -3') и 1 ед. Taq-полимеразы (Lytech, Москва).

Условия реакции:

95°C, 4 мин; затем 5 циклов: 95°C, 30 сек; 55°C, 1 мин 30 сек; 68°C, 2 мин; 25 циклов: 95°C, 30 сек; 55°C, 1 мин 30 сек; 68°C, 1 мин 30 сек. Заключительный цикл: 68°C, 4 мин.

2-й раунд:

Праймеры: BSP2L (прямой): 5'-ATTGGTTTAGA GAATAGAGGTTTGT-3'; BSP2R-nested (обратный): 5'-CTACGAAAAAAAACTCCAAATC-3'.

Состав реакционной смеси и программный режим аналогичен 1-му раунду, за исключением того, что «отжиг» праймеров проводился при температуре 56°C. В качестве матрицы вносили 1 мкл ПЦР-продукта, синтезированного в 1-м раунде.

Специфичный ПЦР-продукт выделяли из легкоплавкой агарозы по методу, описанному в [30]. Эффективность конверсии оценивали, гидролизуя амплифицированный фрагмент рестриктазой HpaII.

Для анализа метилирования использовали рестриктазы *NruI* и *HinfI* (Stratagene), сайты для которых появляются после модификации только на метилированных аллелях. ПЦР-фрагменты гидролизовали в 10 мкл при 37°C в течение ночи и анализировали в 6% полиакриламидном геле, окрашенном SYBRGreen. Для количественной оценки уровня метилирования в опухолевой и нормальной тканях использовали цифровую фотодокументационную

систему и программное обеспечение EDAS 290 (Kodak Digital Science).

Статистический анализ. Для статистической обработки данных использовали программу Mathcad (MathSoft, Inc).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ 5'-фланкирующей области гена *DUSP9*.

Нуклеотидная последовательность гена *DUSP9* была получена нами из банка данных GenBank Database (асс. по NC_00023). Поскольку промоторная область *DUSP9* пока не идентифицирована, мы проанализировали 5'-фланкирующую нуклеотидную последовательность гена, включающую 2500 пар оснований «вверх по течению» от сайта инициации транскрипции. Для поиска CpG-островков, ассоциированных с геном, мы использовали программу «EMBOSS CpG software» (<http://www.ebi.ac.uk/emboss/cpgplot/>). В исследуемом районе был выявлен CpG-островок протяженностью в 728 нуклеотидов с высокой плотностью CpG-динуклеотидов (% CG – 74.12, obs/exp – 0.8), который начинается в 5'-нетранскрибируемом участке гена и захватывает область 1 экзона (рис. 1). В этом островке содержится 81 CpG-динуклеотид.

Анализ статуса метилирования CpG-островка, расположенного в 5'-фланкирующей области гена *DUSP9*. Статус метилирования CpG-островка гена *DUSP9* был количественно оценен в парных образцах опухолевой и нормальной ткани пациентов после нефрэктомии. Ранее все образцы были проанализированы методом ОТ-ПЦР, и во всех парах в опухоли по сравнению с нормой было выявлено подавление экспрессии гена *DUSP9* [1]. Анализ метилирования был проведен с использованием метода COBRA [35] (рис. 2). Принцип метода состоит в том, что бисульфитная модификация ДНК позволяет дифференцировать метилированные и неметилированные аллели. Это становится возможным потому, что бисульфит в кислой среде дезаминирует неметилированный цитозин, который в результате конвертируется в урацил [12]. Таким образом, после амплификации модифицированной ДНК в последовательности ПЦР-продукта на месте неметилированного цитозина будет аденин, а метилированный цитозин останется цитозином.



Рис. 2. Схема метода COBRA

При выборе праймеров для амплификации модифицированной ДНК мы руководствовались следующими критериями:

1 – праймеры, по возможности, не должны содержать CpG, чтобы исключить избирательность в амплификации метилированных или неметилированных аллелей (в крайнем случае наличие этих динуклеотидов допускалось только на 5'-конце праймера);

2 – чтобы максимально исключить амплификацию с немодифицированной последовательности ДНК, в праймерах должно было быть не менее 4 конвертируемых цитозинов;

3 – праймеры должны «отжигаться» при температуре не меньше 55°C, это условие важно для сохранения исходного соотношения метилированных и неметилированных аллелей при амплификации гетерогенной матрицы [31].

Анализ продуктов амплификации проводили, используя рестриктазы NruI и HinfI, которые гидро-

лизовали только метилированные аллели. Для проверки эффективности модификации ПЦР-фрагмент гидролизовали рестриктазой HpaII.

Было проанализировано 27 парных образцов (25 – светлоклеточная карцинома, 2 – хромофильноклеточная карцинома), из которых 18 – от пациентов мужчин, 9 – женщин. После гидролиза ПЦР-фрагментов рестриктазой NruI метилированные аллели были детектированы в 9 парных образцах. Корреляционный анализ выявил строгую ассоциацию между появлением метилированных аллелей и полом пациентов. Так, ДНК, выделенная из нормальной и опухолевой ткани пациентов мужского пола, во всех 18 случаях была не метилирована в исследуемой области. У 8 из 9 женщин в нормальной и опухолевой ткани были выявлены метилированные аллели (рис. 3). При этом относительное увеличение уровня метилирования ДНК в опухоли по сравнению с парной прилегающей условно нормальной тканью наблюдалось в 5 случаях из 9 (56%). Выявленные различия статистически значимы (t-тест, $p < 0.05$). Аналогичные результаты были получены и при анализе с использованием рестриктазы HinfI. Выборочно для 5 пар оценка статуса метилирования была повторена, начиная со стадии модификации. Результаты повторенных анализов полностью совпали. Отсутствие или наличие незначительного количества метилированных аллелей в нормальной ткани пациентов женского пола свидетельствует о том, что на неактивной X-хромосоме эти области в норме не метилированы.

Интересно отметить тот факт, что в единственной пробе из группы женщин, в которой ни в норме, ни в опухоли не было выявлено метилированных аллелей, мы обнаружили значительное увеличение степени метилирования карциномной ДНК по сравнению с нормальной в области 1 экзона, в то время как для других проб значимых различий в метилировании этой зоны обнаружено не было (данные не приведены).

Присутствие метилированных аллелей в нормальной ткани можно объяснить несколькими причинами: 1 – наличие в нормальной ткани опухолевых клеток; 2 – клетки, прилегающие к опухоли, несмотря на то, что сохраняют нормальный фенотип, уже претерпели некоторые изменения на молекулярном уровне [33]. Мы склонны объяснить присутствие метилированных аллелей в нормальной ткани ее гетерогенностью, связанной с присутствием в ней небольшой популяции фибробластов и клеток крови. Эти клетки могут иметь свой специфический спектр метилирования [18].

Таким образом, мы показали, что опухолевая ткань по сравнению с нормальной характеризуется более высоким уровнем метилирования 5'-флан-

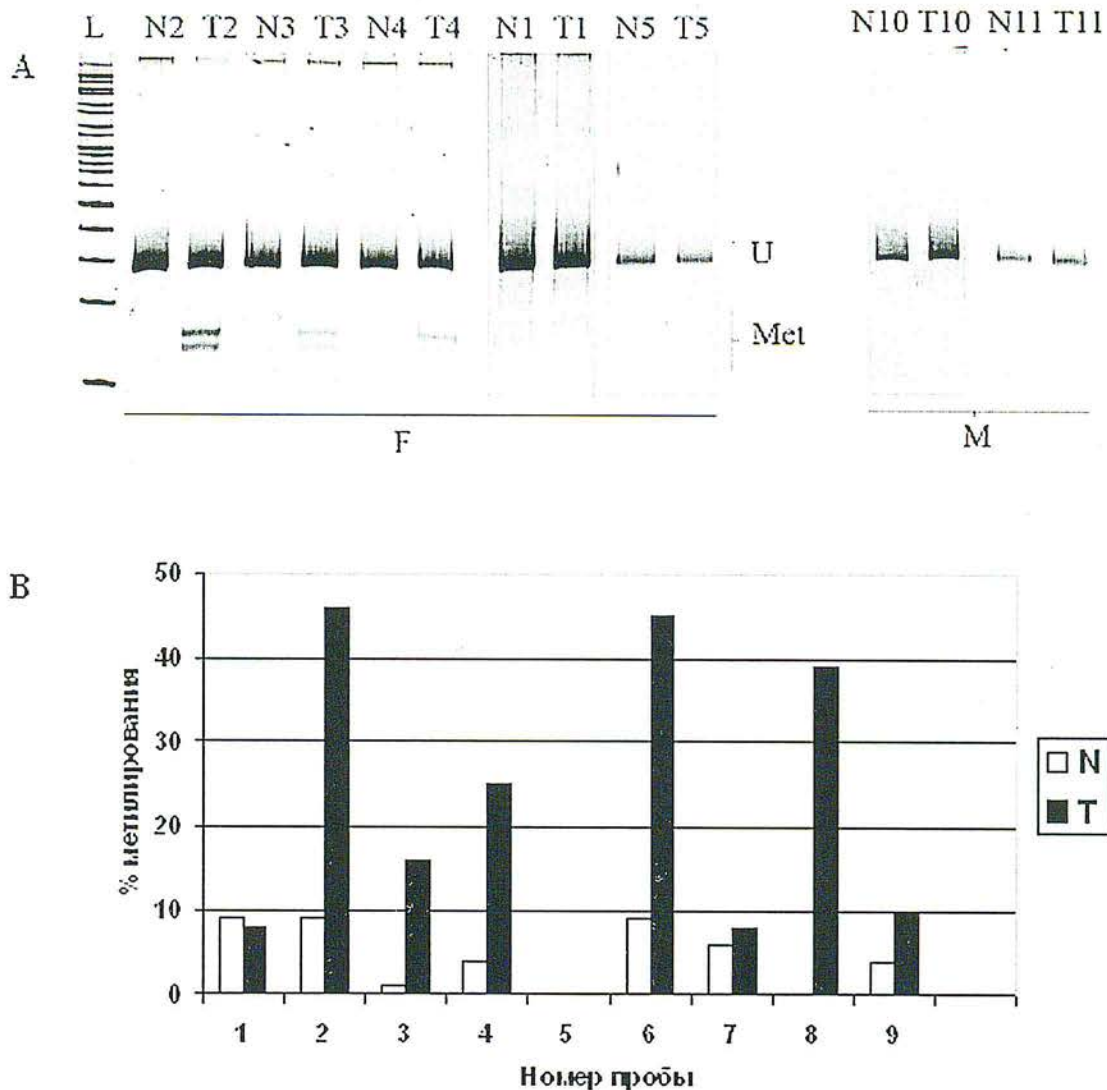


Рис. 3. Анализ статуса метилирования в парных образцах опухолевой и условно нормальной тканей почки.

А – Уровень метилирования оценивали по интенсивности свечения бендов метилированных (Met) и неметилированных (U) аллелей: L – маркер 100bp GeneRuler (Fermentas); F – женщины; M – мужчины; N1–5, 10, 11 – образцы условно нормальной ткани; T1–5, 10, 11 – опухолевые образцы. В – Диаграмма процентного соотношения уровня метилирования в образцах условно нормальной и опухолевой тканей, полученных от пациентов женского пола

кирующей области гена *DUSP9*, что подтверждает наше предположение о возможности эпигенетического подавления его экспрессии в клетках почечной карциномы. Однако этих данных пока недостаточно, чтобы однозначно утверждать, что именно гиперметилирование промоторной области гена *DUSP9* приводит к его транскрипционной репрессии. Ответить на этот вопрос помогут эксперименты на культурах клеточных линий опухоли почки с использованием деметилирующего агента 5-aza-2'-дезоксифлуоридина. Особого интереса заслуживает выявленная гендерная специфичность метилирования гена *DUSP9*. Для того чтобы исключить возможность артефакта, причиной которого может быть небольшое количество проб в эксперименте, планируется провести анализ более представительной выборки.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В предыдущих работах мы показали, что в ткани почечной карциномы инактивируется экспрессия гена *DUSP9*. Наши данные нашли подтверждение в работе других исследователей, которые также обнаружили заметное снижение транскрипционной активности этого гена в клетках светлоклеточной карциномы [14]. Важно заметить, что в цитируемой работе авторы, в отличие от нас, использовали микродиссекционный материал, поэтому можно утверждать, что подавление транскрипции *DUSP9* ассоциировано с эпителием проксимального отдела трубочек, откуда происходит светлоклеточная карцинома.

В настоящем исследовании мы сравнили уровень метилирования 5'-фланкирующей области гена *DUSP9* в нормальной и карциномной ткани почки и

обнаружили четкие гендерные различия в уровне метилирования ДНК гена *DUSP9* в опухолевой ткани. По-видимому, у мужчин в инактивации гена *DUSP9* эпигенетические механизмы, по крайней мере в форме метилирования ДНК, не участвуют и экспрессия регулируется иначе. В литературе описаны подобные факты корреляции между частотой выявления гиперметилирования и полом пациентов [34, 36]. Причины этого пока не понятны. Более детальное изучение таких фактов, на наш взгляд, необходимо, поскольку это может означать в будущем необходимость разработки тактики лечения больных с учетом пола.

Ген *DUSP9* расположен в локусе Xq28 на X-хромосоме. К этому локусу на сегодняшний день привязано свыше 40 из 300 известных сцепленных с X-хромосомой заболеваний [21]. Многочисленный фактический материал свидетельствует об активной вовлеченности X-генов в процесс карциногенеза [25, 26, 5]. Значение X-хромосомы в опухолевом генезе почки доказывают недавние данные Rivera с соавт., которые идентифицировали и описали на X-хромосоме ген *WTX*, инактивация которого ассоциирована с опухолью Вилмса – злокачественной опухолью почки, поражающей преимущественно детей [28]. Важным наблюдением, также подтверждающим роль X-хромосомы в развитии почечных опухолей, является высокая частота аномалий в развитии почки у больных с синдромом Тернера, характеризующихся X-моносомией [23, 4].

Функциональная роль гена *DUSP9* в нормальном развитии почки пока непонятна. На модели нокаутных мышей каких-либо морфологических различий в почечной ткани у нормальных животных и тех, у кого ген *DUSP9* был активирован, выявлено не было [6]. Физиологические особенности почек у мышей с инактивированным геном в работе не исследовались. Но, как известно, модельные системы, с применением как животных, так и клеточных линий, не всегда адекватно отражают события *in vivo*. Так, например, инактивация гена *VHL* у мышей не увеличивала риск развития рака почки, в то время как установлено, что подавление экспрессии этого гена у людей ассоциировано с развитием светлоклеточной карциномы [16].

На основании полученных результатов можно заключить, что эпигенетическая модификация, как первопричина снижения экспрессии *DUSP9* в опухоли почки, встречается, по-видимому, редко, особенно у мужчин, и чаще подавление происходит вследствие других событий. Очень часто в опухолевой патологии причиной инактивации генов являются хромосомные делеции в локусе этих генов. Однако до сих пор никаких цитогенетических маркеров, ассоциированных с локусом Xq28, при светлоклеточной карциноме не известно. Возможно, большие делеции в

этом локусе, которые могут быть выявлены классическими цитогенетическими методами, летальны для клеток. Другой причиной инактивации экспрессии могут быть мутации в самом гене или в транскрипционных факторах, регулирующих их экспрессию. Так или иначе, вопрос пока остается открытым и требуются дополнительные исследования.

Хорошо известно, что заболеваемость мужчин светлоклеточной формой рака почки в 2–3 раза выше, чем женщин. Объяснений этому факту, кроме как связанных с образом жизни, пока нет. Локализация гена *DUSP9* на X-хромосоме допускает, что у мужчин полная инактивация его экспрессии может быть результатом одного соматического мутационного события на единственной X-аллели, в то время как у женщин при биаллельной экспрессии гена это происходит согласно традиционной двухударной модели карциногенеза, предложенной Knudson [20]. Как известно, многие гены на X-хромосоме избегают инактивации и экспрессируются с активной и неактивной X-аллелей [13, 3]. Вполне возможно, что вторым событием после соматической мутации, повреждающей один X-аллель, может быть эпимутация интактного X-аллеля. Для проверки этой гипотезы необходимо выяснить, моноаллельна или биаллельна экспрессия гена *DUSP9* в эпителиальных клетках почки. Отсутствие на сегодняшний день известных полиморфных локусов в транскрибируемом участке гена *DUSP9* затрудняет решение этой задачи.

Высокая частота инактивации экспрессии гена *DUSP9* у пациентов при светлоклеточной карциноме может означать важную роль *DUSP9* в опухолевом генезе почки и позволяет рассматривать этот ген в качестве потенциального молекулярного диагностического маркера и кандидата на роль терапевтической мишени, а потому работы по изучению функции этого гена как в процессе нормального развития, так и в патогенезе почки требуют продолжения.

Выражаем благодарность сотрудникам ФГУ РНЦПХТФАВМП отделения Эндоваскулярной урологии Карелину М. И. и Андабекову Т. Т., патоморфологической лаборатории Урбанскому А. И. за проявленный интерес к данному исследованию и предоставленные материалы.

Литература

1. Гранов А. М., Якубович Е. И., Евтушенко В. И. Множественный параллельный анализ экспрессии генов как инструмент молекулярной диагностики рака почки и предстательной железы // Мед. акад. журн. 2006. Т. 6. № 1. С. 131–138.
2. Чебуркин Ю. В., Князева Т. Г., Петер Ш. и др. Молекулярный портрет карцином почки человека, полученный на основе экспрессии протеин-тирозинкиназ и тирозин-фосфатаз, контролирующих пере-

- дачу регуляторных сигналов в клетках // Мол. биол. 2002. Т. 36. № 3. С. 480–490.
3. Carrel L., Willard H. X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females // Nature. 2005. Vol. 434. P. 400–404.
 4. Chang P., Tsau Y. K., Tsai W. Y. et al. Renal malformations in children with Turner's syndrome // J. Formos Med. Assoc. 2000. Vol. 99. P. 796–798.
 5. Chen Y. J., Vortmeyer A., Zhuang Z. et al. X-chromosome loss of heterozygosity frequently occurs in gastrinomas and is correlated with aggressive tumor growth // Cancer. 2004. Vol. 100. P. 1379–1387.
 6. Christie G., Williams D., MacIsaac F. et al. The dual-specificity protein phosphatase DUSP9/MKP4 is essential for placental function but not required for normal embryonic development // Mol. and Cell Biol. 2005. Vol. 25. P. 8323–8333.
 7. Costa V. L., Henrique R., Ribeiro F. R. et al. Quantitative promoter methylation analysis of multiple cancer-related genes in renal cell tumors // BMC Cancer. 2007. Vol. 7. P. 133.
 8. Costello J. and Plass C. Methylation matters // J. Med. Genet. 2001. Vol. 38. P. 285–303.
 9. D'Alessio A. C., Szyf M. Epigenetic tête-à-tête: the bilateral relationship between chromatin modifications and DNA methylation // Biochem. Cell Biol. 2006. Vol. 84. P. 463–476.
 10. Dahl E., Wiesmann F., Woenckhaus M. et al. Frequent loss of SFRP1 expression in multiple human solid tumours: association with aberrant promoter methylation in renal cell carcinoma // Oncogene. 2007. Vol. 26. P. 5680–5691.
 11. Dulaimi E., Ibanez de Caceres I., Uzzo R. G. et al. Promoter hypermethylation profile of kidney cancer // Clin. Cancer Res. 2004. Vol. 10. P. 3972–3979.
 12. Frommer M., McDonald L. E., Millar D. S. et al. A genomic sequencing protocol that yields a positive display of 5-methylcytosine residues in individual DNA strands // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1992. Vol. 89. P. 1827–1831.
 13. Heard E., Disteche Ch. Dosage compensation in mammals: fine-tuning the expression of the X chromosome // Genes & Dev. 2006. Vol. 20. P. 1848–1867.
 14. Hirota E., Yan L., Tsunoda T., Ashida Sh. et al. Genome-wide gene expression profiles of clear cell renal cell carcinoma: Identification of molecular targets for treatment of renal cell carcinoma // Int. J. Oncol. 2006. Vol. 29. P. 799–827.
 15. Hoque M. O., Begum S., Topaloglu O. et al. Quantitative detection of promoter hypermethylation of multiple genes in the tumor, urine, and serum DNA of patients with renal cancer // Cancer Res. 2004. Vol. 64. P. 5511–5517.
 16. http://www.americanchemistry.com/s_acc/docs/LRI-Abstracts/LRIAbstract_134.pdf
 17. Ibanez de Caceres I., Dulaimi E., Hoffman A. M. et al. Identification of novel target genes by an epigenetic reactivation screen of renal cancer // Cancer Res. 2006. Vol. 66. P. 5021–5028.
 18. Illingworth R., Kerr A., DeSousa D. et al. A Novel CpG Island Set Identifies Tissue-Specific Methylation at Developmental Gene Loci // PLoS Biol. 2008. Vol. 6 (1): e22.
 19. Jaenisch R., Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals // Nat. Genet. 2003. Vol. 33. P. 245–254.
 20. Knudson A. G. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1971. Vol. 68. P. 820–823
 21. Kolb-Kokocinski A., Mehrle A., Bechtel S. et al. The systematic functional characterisation of Xq28 genes prioritises candidate disease genes // BMC Genomics. 2006. Vol. 7. P. 29.
 22. Liu Y., Lagowski J., Sundholm A. et al. Microtubule disruption and tumor suppression by mitogen-activated protein kinase phosphatase 4 // Cancer Res. 2007. Vol. 67. P. 10711–10719.
 23. Matthies F., Macdiarmid W. D., Rallison M. L., Tyler F. H. Renal anomalies in Turner's syndrome. Types and suggested embryogenesis // Clin. Pediatrics. 1971. Vol. 10. P. 561–565.
 24. Muda M., Boschert U., Smith A. et al. Molecular cloning and functional characterization of a novel mitogen activated protein kinase phosphatase, MKP-4 // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 5141–5151.
 25. Niranjana V., Mahmood R., Kalaivani A. and Sudha S. Study of cancer genes in X-chromosome // J. of Theoretical and Applied Information Technology. 2008. P. 31–54.
 26. Piao Z., Malkhosyan S. R. Frequent loss Xq25 on the inactive X chromosome in primary breast carcinomas is associated with tumor grade and axillary lymph node metastasis // Genes Chromosomes Cancer. 2002. Vol. 33. P. 262–269.
 27. Reik W., Dean W., Walter J. Epigenetic reprogramming in mammalian development // Science. 2001. Vol. 293. P. 1089–1093.
 28. Rivera M., Kim W. J., Wells J. et al. An X chromosome gene, WTX, is commonly inactivated in Wilms tumor // Science. 2007. Vol. 315. P. 642–645.
 29. Robertson K. D. and Wolffe A. P. DNA methylation in health and disease // Nat. Rev. Genet. 2000. P. 11–19.
 30. Sambrook J., Fritsch E. F. and Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. Vol. 1, 2, 3.
 31. Shen L., Guo Yi., Chen X. et al. Optimizing annealing temperature overcomes bias in bisulfite PCR methylation analysis // BioTechniques. 2007. Vol. 42. P. 48–52.
 32. To K. K., Zhan Z., Bates S. Aberrant promoter methylation of the ABCG2 gene in renal carcinoma // Mol. Cell Biol. 2006. Vol. 26. P. 8572–8585.
 33. Ushijima T. Epigenetic field for cancerization // J. Biochem. and Mol. Biol. 2007. Vol. 40. № 2. P. 142–150.
 34. Wiencke J. K., Zheng Sh., Lafuente A. et al. Aberrant Methylation of p16INK4a in Anatomic and Gender-specific Subtypes of Sporadic Colorectal Cancer // Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 1999. Vol. 8. P. 501–506.
 35. Xiong Z., Laird P. W. COBRA: a sensitive and quantitative DNA methylation assay // Nucleic Acids Res. Vol. 25. P. 2532–2534.
 36. Yuasa Y., Nagasaki H., Akiyama Y. et al. Relationship between CDX2 gene methylation and dietary factors in gastric cancer patients // Carcinogenesis. 2005. Vol. 26. P. 193–200.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ АНТИДЕПРЕССАНТОВ И АНТИКОНВУЛЬСАНТОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЕЖЕДНЕВНОЙ ГОЛОВНОЙ БОЛИ

Академик РАМН СКОРОМЕЦ А. А., АМЕЛИН А. В., ТАРАСОВА С. В.,
академик РАМН ИГНАТОВ Ю. Д.

ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова»,
Санкт-Петербург

Скоромец А. А., Амелин А. В., Тарасова С. В., Игнатов Ю. Д. Эффективность и безопасность антидепрессантов и антиконвульсантов при лечении хронической ежедневной головной боли // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 62–68. ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова», Санкт-Петербург, 197022, ул. Льва Толстого, 6/8.

Исследовали эффективность и безопасность антидепрессантов (амитриптилин, милнаципран, эсциталопрам, мапротилин) и антиконвульсантов (топирамат, вальпроат, габапентин и карбамазепин) при лечении 406 больных, из которых у 199 была диагностирована хроническая мигрень, у 122 – хроническая головная боль напряжения и у 85 – сочетание указанных типов боли. Средний возраст пациентов 40,4±11,7 года (от 19 до 65 лет); большинство больных (235) составляли женщины. Лечение указанными средствами проводилось в течение 12 нед с оценкой его эффективности каждые 2 нед и последней – спустя 4 нед после окончания курса. Подтверждена высокая эффективность антиконвульсантов при лечении указанных форм головной боли, но наибольшей она была при хронической мигрени. Из использованных антидепрессантов самыми эффективными оказались амитриптилин и милнаципран, среди антиконвульсантов – топирамат. Лучшая переносимость была у эсциталопрама и топирамата. Использование антидепрессантов и антиконвульсантов позволило вдвое снизить суточную дозу анальгетиков и у 20% пациентов полностью отменить их.

Ключевые слова: хроническая ежедневная головная боль, хроническая мигрень, хроническая головная боль, антидепрессанты, антиконвульсанты.

Skorometz A. A., Amelin A. V., Tarasova S. V., Ignatov Yu. D. The efficacy and safety of different antidepressants and anticonvulsants in chronic daily headache // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 3. P. 62–68. I. P. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, 197022.

Efficacy of antidepressants and anticonvulsants (amitriptyline, milnaciprane, escitalopram, maprotiline, topiramate, valproate, gabapentine and carbamazepine) was studied in 406 patients: 199 with chronic migraine, 122 with chronic headache of tension and 85 with a combination of the above types of headache. Mean age of the patients was 40,4±11,7 (from 19 to 65 years), most patients were female (n=235). The treatment was conducted during 12 weeks with assessment of efficacy every 2 weeks and 4 weeks after the end of the treatment. The response was high for all antidepressants and anticonvulsants, with the highest efficacy in chronic migraine. Among antidepressants and anticonvulsants used amitriptyline, milnaciprane and topiramate proved to be most effective. The use of antidepressants, anticonvulsants allows the reduction of the dosage of analgetics as much as twice and the complete withdrawal of the latter in 20% of cases.

Key words: chronic daily headache, chronic migraine, chronic headache of tension, treatment, antidepressants, anticonvulsants.

Среди различных форм хронических болевых синдромов головные боли занимают одну из ведущих позиций [6]. По данным ряда эпидемиологических исследований, 4–5% населения развитых стран жалуются на хронические головные боли, а в специализированных центрах по лечению цефалгий доля таких больных составляет от 35 до 85% [8]. Большинство авторов основными причинами хронических ежедневных головных болей (ХЕГБ) называют хроническую мигрень, головную боль напряжения и цефалгию, вызванную излишним применением анальгетиков [16]. Хронический характер боли делает цефалгии одной из самых частых причин снижения качества жизни пациентов, длительной нетру-

доспособности и дезадаптации в профессиональной деятельности и повседневной жизни.

Среди лекарственных средств, потенциально способных оказать позитивное влияние на течение хронической боли, называют трициклические антидепрессанты, антиконвульсанты и ряд других психотропных препаратов [1, 4, 9]. Появление в последние годы антидепрессантов и антиконвульсантов с новыми механизмами действия и улучшенной безопасностью усилило интерес к фармакотерапии хронических цефалгий [11, 15]. Однако публикаций, посвященных сравнительному анализу эффективности и безопасности традиционных и новых антидепрессантов и антиконвульсантов, в литературе крайне мало, а их результаты весьма противоречивы [9, 10].

Целью работы явилось исследование эффективности и безопасности антидепрессантов и антиконвульсантов при лечении хронической ежедневной головной боли.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У 120 пациентов с ХЕГБ исследовалась сравнительная эффективность и безопасность четырех антидепрессантов с различными нейрохимическими механизмами действия: амитриптилина, эсциталопрама, милнаципрана и мапротилина. Большинство больных с ХЕГБ (83 человека, 69,1%) были женщины, средний возраст 42,5 года (от 18 до 62 лет). Диагностика цефалгий осуществлялась с помощью диагностических критериев Международной классификации головных болей второго пересмотра (МКГБ-2) и Международной классификации болезней (МКБ-10). Диагноз хронической мигрени (ХМ) и хронической головной боли напряжения (ХГБН) был установлен 55 (45,8%) и 22 (18,3%) больным, в 13 (10,8%) случаях выявлено сочетание этих двух цефалгий, посттравматическая и цервикогенная головные боли диагностированы у 6 (5,0%) и 2 (1,7%) больных соответственно. Злоупотребление анальгетиками выявлено у 72 (60%) больных. У 100 (83,3%) пациентов диагностированы симптомы тревоги и у 96 (80%) – симптомы депрессии субклинической и клинической выраженности по данным Госпитальной Шкалы Тревоги и Депрессии. Средняя суточная доза амитриптилина была 70,31 мг (50–150 мг), милнаципрана – 85,86 мг (50–100 мг), эсциталопрама – 11,3 мг (5–20 мг), мапротилина – 47,1 мг (25–75 мг).

Антиконвульсанты вальпроат, габапентин, карбамазепин и топирамат применялись у 286 пациентов с ХЕГБ. Большинство из них (152 человека, 84,4%) были женщины. Средний возраст больных равнялся 40,4 годам (от 19 до 65 лет). Хроническая мигрень и хроническая головная боль напряжения диагностированы у 144 (50,3%) и 100 (35,0%) больных соответственно. В 42 (14,7%) случаях ХЕГБ была представлена сочетанием мигрени с головной болью напряжения. Злоупотребление анальгетиками выявлено у 194 (67,8%) больных. У 203 (70,9%) пациентов диагностированы симптомы тревоги и депрессии легкой и средней степени выраженности. Средняя суточная доза вальпроата была равна 1309,5 мг (1000–1500 мг), габапентина – 2656,2 мг (1800–3600 мг), топирамата – 113,4 мг (50–200 мг), карбамазепина – 471,0 мг (300–600 мг).

Для выявления органической природы головной боли всем пациентам производились МРТ головного мозга, МР ангиография, рентгенография шейного отдела позвоночника, кранио-вертебральной области, УЗДГ брахиоцефальных сосудов, ЭЭГ, нейроорто-

педические методики. Для выявления сопутствующих психоэмоциональных расстройств применялась Госпитальная Шкала Тревоги и Депрессии (ГШТД). Качество жизни оценивалось с помощью специально разработанного для пациентов с головной болью опросника (Galen Research and COAT, Zeneca, 1998). Степень нарушения повседневной активности оценивали с помощью специального опросника MIDAS (Migraine Disability Assessment Questionnaire), регистрирующего влияние всех головных болей на жизнь пациента за последние 3 мес. В специальном дневнике пациенты регистрировали тип головной боли, частоту приступов, их интенсивность, продолжительность, а также количество принятых для купирования анальгетиков и их побочные эффекты.

Первичными конечными точками оценки эффективности лечения были индекс головной боли (ежемесячно регистрируемое число дней с головной болью × средняя интенсивность головной боли × продолжительность головной боли в часах /28); число пациентов, у которых количество дней с ежемесячной головной болью уменьшилось на 50% и более. Вторичными промежуточными точками были выбраны количество приступов головной боли продолжительностью более 4 ч; индекс нарушения повседневной активности (MIDAS); количество принимаемых ежемесячно анальгетиков и триптанов; показатели шкалы депрессии, тревоги; показатели шкалы качества жизни пациента с головной болью. Контрольный визит для оценки эффективности и переносимости назначенного лечения осуществлялся каждые 4 нед. Продолжительность курса лечения составила 12 нед. Пациенты добровольно согласились на участие в исследовании. Каждый пациент в любое время мог отказаться от проводимого лечения, поставив в известность врача. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения SPSS 12.1.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полный курс лечения закончили 87 (72,5%) пациентов, принимавших антидепрессанты. Среди них 58 (66,7%) больных с хронической мигренью, 17 (19,5%) с ХГБН и 12 (13,8%) больных со смешанной формой цефалгии. Индекс головной боли достоверно уменьшался к концу первого месяца лечения во всех группах, и такая тенденция наблюдалась на протяжении всего курса лечения. Сравнительная оценка индекса на всех этапах лечения не выявила достоверных преимуществ какого-либо антидепрессанта. Через месяц после отмены антидепрессантов индекс головной боли несколько повышался, но оставался достоверно более низким по сравнению с исходным периодом (табл. 1). Через 3 мес лечения сокращение ежемесячного количества дней с голо-

Сравнительная оценка индекса головной боли при лечении антидепрессантами

Этап лечения	Эсциталопрам	Милнаципран	Мапротилин	Амитриптилин	P* между группами
<i>Исходно</i>					
n	30	30	30	30	0.0977
Mean	1.92	2.13	1.78	2.92	
SD	1.46	1.37	1.45	2.72	
Median	1.2	1.8	1.2	2.0	
Minimum-Maximum	0.0-5.6	0.0-6.5	0.0-5.6	0.0-11.8	
<i>1-4-я нед</i>					
n	27	28	24	19	0.7316
Mean	1.41	1.49	1.42	1.68	
SD	1.06	1.36	1.00	1.04	
Median	1.0	1.0	1.0	1.7	
Minimum-Maximum	0.0-4.0	1.0-4.0	1.0-3.6	0.5-7.8	
P1-P2 **	0,003	0,0001	0,02	0,0001	
<i>5-8-я нед</i>					
n	27	27	21	17	0.9557
Mean	1.35	1.25	1.25	1.33	
SD	0.96	0.85	0.63	0.91	
Median	1.0	1.0	1.0	1.1	
Minimum-Maximum	0.0-4.0	0.0-4.0	0.0-3.0	0.5-3.7	
P1-P3 **	0,003	0,0001	0,02	0,0001	
<i>9-12-я нед</i>					
n	27	23	21	16	0.4405
Mean	1.33	1.06	1.26	1.05	
SD	0.89	0.56	0.79	0.57	
Median	1.0	1.0	1.0	0.9	
Minimum-Maximum	1.0-4.0	0.0-2.6	0.0-4.0	0.5-2.2	
P1-P4 **	0,010	0,0001	0,02	0,001	
<i>4 нед после лечения</i>					
n	27	23	21	16	0.3167
Mean	1.29	1.24	1.61	1.36	
SD	0.80	0.66	0.7	0.4	
Median	1.20	1.0	1.0	1.1	
Minimum-Maximum	0.0-3.1	0.0-3.1	0.0-3.9	0.8-2.2	
P1-P5 **	0,031	0,0001	0,278	0,001	
P*	0,056	0,001	0,001	0,001	

* Тест Фридмана; ** тест Вилкоксона; * тест Крускала Уолиса (непараметрический ANOVA, множественный сравнительный анализ Данна).

вной болью на 50% и более было получено у 81,3% пациентов, принимавших амитриптилин, у 69,6% принимавших милнаципран, у 57,1% принимавших мапротилин, у 51,9% принимавших эсциталопрам. Однако выявленное преимущество амитриптилина и милнаципрана перед эсциталопрамом и мапротилином не было статистически достоверным (точный критерий Фишера=4,397; 2-х ст. Монте-Карло=0,222; 95%ДИ 0,211-0,233). Антидепрессанты в одинаковой мере были эффективны при лечении головной боли как у пациентов с сопутствующей депрессией, так и без нее (точный критерий Фишера P=1,00; OR=1,002; 95%ДИ=0,51-1,95; ОШ=1,003; 95%ДИ=0,34-2,88), что подтверждает предположение о наличии самостоятельных обезболивающих свойств у этих препаратов. Анализ выживания Каплан – Мейера показал,

что сроки достижения положительного результата лечения были достоверно меньшими при использовании амитриптилина (Log Rank статистика =5,87; P=0,015) и милнаципрана (Log Rank статистика=5,56; P=0,018) (рис. 1). Среди всех сравниваемых клинических показателей только интенсивность головной боли статистически значимо влияла на сроки наступления конечного позитивного результата лечения. Чем сильнее была исходная интенсивность цефалгии, тем медленнее развивался положительный конечный результат лечения. Такие показатели, как пол, исходная ежемесячная частота головной боли, злоупотребление анальгетиками и триптанами, исходная выраженность тревоги и депрессии, тип головной боли, достоверно не влияли на сроки наступления положительного результата лечения при

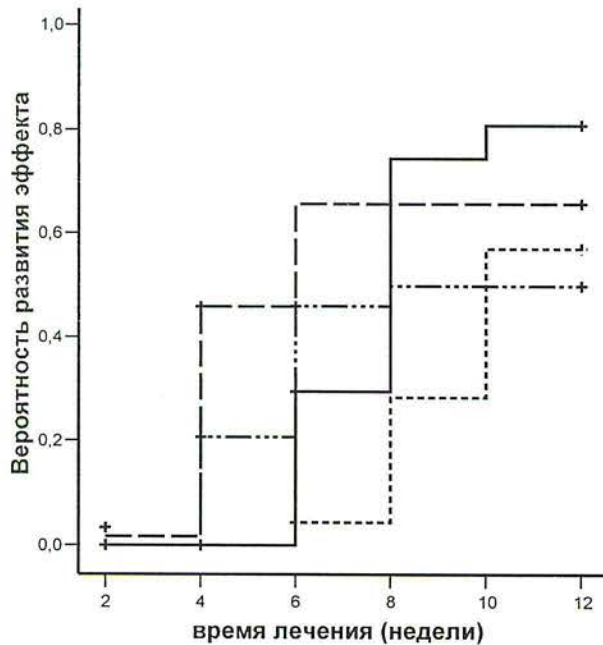


Рис. 1. Влияние антидепрессантов с различными механизмами действия на сроки наступления конечного положительного результата лечения (уменьшение ежемесячного количества дней с головной болью на 50% и более) по кривым Каплан – Мейера: 1 – амитриптилин, 2 – мапротилин, 3 – милнаципран, 4 – эсциталопрам

использовании антидепрессантов (регрессия Кокса $\chi^2 = 12,939$; $P=0,607$). Эсциталопрам и милнаципран отличались лучшей, по сравнению с амитриптилином и мапротилином, переносимостью ($P=0,0034$; $OШ=0,127$, $95\%ДИ=0,031-0,510$). Характер и частота встречаемости побочных эффектов представлены в табл. 2.

Полный курс лечения антиконвульсантами закончили 180 (62,9%) пациентов. Через 4 нед лечения индекс головной боли достоверно уменьшился толь-

ко у пациентов, принимавших топирамат. Через 8 и 12 нед эта первичная точка оценки эффективности лечения достоверно уменьшилась по сравнению с исходным периодом во всех сравниваемых группах, но без статистически значимых межгрупповых различий. На заключительном визите пациентов через 4 нед после прекращения лечения выявлено, что индекс головной боли оставался достоверно сниженным по сравнению с исходным периодом во всех группах. Однако межгрупповые различия выявили преимущество топирамата по сравнению с карбамазепином (табл. 3).

Сокращение ежемесячного количества дней с головной болью на 50% и более, по сравнению с исходным периодом, выявлено у 35 (67,3%) пациентов, принимавших топирамат, у 25 (59,5%) – вальпроат натрия, 30 (62,5%) – габапентин и у 22 (57,9%) – карбамазепин. Следует отметить, что эффективность антиконвульсантов была особенно высока у больных с явлениями аллодинии, развивающейся во время приступа головной боли. Их доля среди всех больных с положительными результатами лечения составляла примерно половину во всех группах.

Антиконвульсанты проявляли различную эффективность при разных типах головной боли. Наиболее эффективными они оказались у пациентов с хронической мигренью. К концу лечения полностью отказаться от анальгетиков смогли только 37 (36,6%) человек. У 64 (63,4%) больных частота использования анальгетиков и агонистов 5HT_{1B/1D}-рецепторов (триптанов) снизилась до 2 дней в неделю, у 89 (88,1%) больных суточная доза препаратов была снижена более чем вдвое, а у 98 (97%) больных комбинированные анальгетики, содержащие барбитураты, кодеин и кофеин, удалось заменить пролонгированными НПВП или триптанами (суматриптан,

Таблица 2

Побочные эффекты, наблюдаемые во время лечения антидепрессантами

Побочный эффект	Амитриптилин (n=20)	Милнаципран (n=20)	Эсциталопрам (n=20)	Мапротилин (n=20)
Сухость во рту	16 (80 %)	5 (25 %)	0	10 (50 %)
Сонливость	12 (60 %)	6 (30 %)	2 (10 %)	8 (40%)
Возбудимость	0	1 (5 %)	4 (20 %)	2 (10 %)
Головокружение, атаксия	9 (45 %)	4 (20 %)	3 (15%)	7 (35%)
Мышечная слабость	10 (50 %)	2 (10 %)	1 (5 %)	5 (25 %)
Тремор	6 (30%)	1 (5 %)	3 (15%)	4 (20 %)
Потливость	0	3 (15%)	4 (20 %)	1 (5 %)
Сердцебиение	6 (30%)	2 (10 %)	0	7 (35%)
Гипотония	5 (25%)	0	0	3 (15%)
Гипертензия	0	0	0	2 (10 %)
Диспепсия	7 (35%)	5 (25 %)	4 (20 %)	6 (30%)
Запоры, понос	6 (30%)	5 (25%)	2 (10 %)	5 (25 %)

Примечание. Цифры в таблице – абсолютное и процентное число больных.

Сравнительная динамика индекса головной боли при лечении антиконвульсантами

Этап лечения	Топирамат (n=52)	Вальпроат (n=42)	Габапентин (n=48)	Карбамазепин (n=38)	P между группами
<i>Исходно</i>					
Mean	2.6	2.6	2.7	2.8	0.9921
SD	2.8	2.6	2.8	2.4	
Median	2.0	1.9	1.6	2.0	
Minimum-Maximum	0.0-16.7	0.0- 16.7	0.0-15.6	0.0-11.8	
<i>1-4-я нед</i>					
Mean	1.7	1.8	1.7	2.1	0.7155
SD	1.4	2.2	1.6	1.9	
Median	1.2	1.2	1.2	1.5	
Minimum-Maximum	0.0-8.3	0.0-14.5	0.2-10.2	0.0-9.9	
P* (исходно – 4 нед)	0.0352	0.1431	0.0596	0.2090	
<i>5-8-я нед</i>					
Mean	1.1	1.2	1.4	1.8	0.1028
SD	1.0	1.2	1.3	1.7	
Median	1.0	1.0	1.0	1.0	
Minimum-Maximum	0.0-6.2	0.0-7.8	0.0-7.8	0.0-8.0	
P (исходно – 8 нед)	0.0005	0.0030	0.0055	0.0559	
<i>9-12 нед</i>					
Mean	1.1	1.1	1.3	1.7	0.0901
SD	1.0	1.0	1.2	1.30	
Median	1.0	1.0	1.0	1.35	
Minimum-Maximum	0.0-6.2	0.0-6.9	0.0-6.2	0.0-5.9	
P (исходно – 12 нед)	0.0003	0.0011	0.0024	0.0167	
<i>4 нед после лечения</i>					
Mean	1.1	1.2	1.3	1.9**	0.0152 топамекс- карбамазепин
SD	1.0	1.0	1.0	1.4	
Median	1.0	1.0	1.0	1.5	
Minimum-Maximum	0.0-6.4	0.2-6.4	0.0-7.4	6.3	
P (исходно – 4 нед после лечения)	0.0003	0.0027	0.0026	0.0494	

*ANOVA; ** Тест Тукея – Крамера, множественное сравнение $q=4.485$, $P<0,01$.

элетриптан, золмитриптан). В результате отмены или значительного снижения дозы абузусного препарата симптомы лекарственно индуцированной головной боли исчезли в течение 4–8 нед и «проявились» клинические черты первичной цефалгии.

Исследованные антиконвульсанты с одинаковой степенью эффективности облегчали процесс отмены анальгетика, и нам не удалось выявить статистически достоверных преимуществ одного из них. Через 3 мес лечения достоверно улучшились показатели шкалы повседневной активности больных MIDAS во всех сравниваемых группах, но наиболее выражено – у пациентов, принимавших вальпроат и топирамат (рис. 2). Характер побочных эффектов антиконвульсантов и частота их возникновения представлены в табл. 4.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное сравнительное исследование антидепрессантов при различных формах хронической ежедневной головной боли показало преимущество амитриптилина и милнаципрапа – препаратов,

одновременно модулирующих активность как серотонинергической, так и норадренергической нейромедиаторных систем. Новый сбалансированный антидепрессант милнаципран сокращает сроки наступления положительного клинического результата лечения до 4–6 нед. Показано, что результаты лечения антидепрессантами зависят от исходной интенсивности головной боли и не зависят от частоты приступов, их продолжительности, пола и возраста пациента, сопутствующих тревожных и депрессивных расстройств.

Механизмы обезболивающего действия антидепрессантов хорошо изучены при нейропатической боли [2, 3, 14], но при головной боли по-прежнему недостаточно исследованы [1]. Проведенные нами ранее эксперименты свидетельствуют, что амитриптилин, но не флуоксетин и мапротилин, уменьшает спонтанную и вызванную стимуляцией сосудов твердой мозговой оболочки возбудимость стволовых нейронов тригеминоваскулярной системы и угнетает проведение краниоваскулярной боли на уровне спинномозгового ядра тройничного нерва. Сосудистый механизм действия амитриптилина реализуется

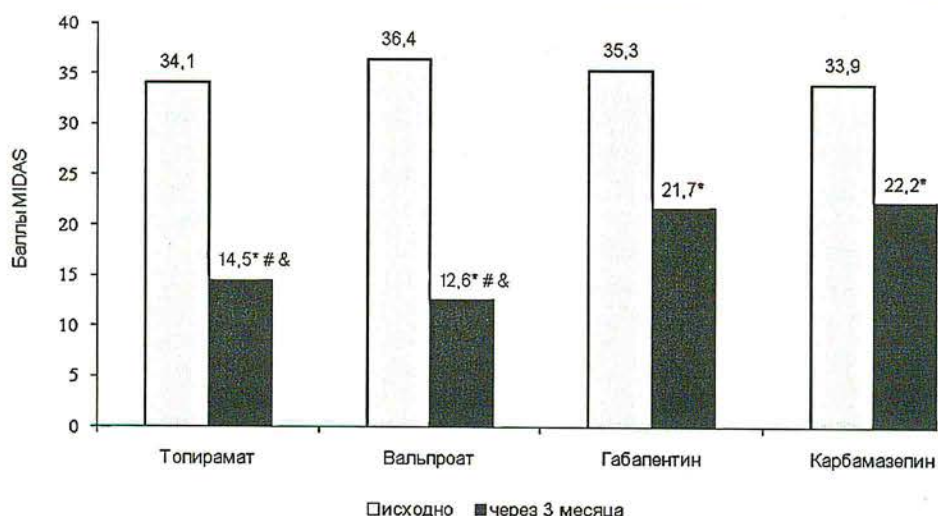


Рис. 2. Показатели шкалы нарушения повседневной активности MIDAS до и после лечения антиконвульсантами.
* – достоверность различий ($P < 0,001$) с исходным периодом, # – достоверность различий ($P < 0,001$) с габапентином, & – достоверность различий ($P < 0,05$) с карбамазепином

Таблица 4

Побочные эффекты антиконвульсантов и частота их возникновения у пациентов, закончивших полный курс лечения

Побочный эффект	Топирамат (n=52)	Вальпроат (n=42)	Габапентин (n=48)	Карбамазепин (n=38)
Астения	8 (15,4%)	7 (16,7%)	9 (18,8%)	10 (26,3%)
Сонливость	6 (11,5%)	7 (16,7%)	7 (14,6%)	12 (31,6%)
Тремор	1 (1,9%)	12 (28,6%)	2 (4,2%)	4 (10,5%)
Атаксия	4 (7,6%)	10 (23,8%)	8 (16,7%)	9 (23,7%)
Мышечная слабость	5 (9,6%)	8 (19,0%)	6 (12,5%)	7 (18,4%)
Парестезии	14 (26,9%)	6 (14,3%)	2 (4,2%)	2 (5,3%)
Увеличение массы тела	–	11 (26,2%)	6 (12,5%)	–
Уменьшение массы тела	9 (17,3%)	–	–	–
Повышение печеночных трансаминаз	–	9 (21,4%)	–	4 (10,5%)

Примечание. Цифры в таблице – абсолютное и процентное число пациентов.

через постсинаптические сосудистые серотониновые 5HT_{2B}-рецепторы. Он предупреждает развитие вазодилатации и асептического «вазогенного» воспаления в твердой мозговой оболочке, являющихся основными причинами головной боли при мигрени. Не вызывает сомнений участие адренергической системы в механизмах реализации антимигренозного действия amitriptilina. Модулируя активность антиноцицептивной норадренергической нейромедиаторной системы, amitriptilin препятствует развитию центральной сенситизации в нейронах чувствительных ядер тройничного нерва и тем самым снижает вероятность хронификации головной боли [1].

Антиконвульсанты зарекомендовали себя высокоэффективными средствами для лечения хронической мигрени [7]. В нашем исследовании их эффективность при хронической головной боли напряжения и

симптоматических цефалгиях оказалась существенно ниже, чем при мигрени. Однако новый антиконвульсант топирамат проявил высокую эффективность как при мигрени, так и при хронической головной боли напряжения. Механизмы действия антиконвульсантов при ХЕГБ остаются по-прежнему мало изученными. Предполагается, что в основе позитивного действия антиконвульсантов при головной боли лежат механизмы, которые определяют их высокую эффективность при лечении нейропатических болевых синдромов [2, 5]. Однако экспериментальные и клинические данные, убедительно подтверждающие единство механизмов развития нейропатической боли и хронической мигрени или хронической головной боли напряжения, пока отсутствуют. В то же время для клинической картины хронических нейропатических болевых синдромов и мигрени характерна аллодиния, свидетельствующая о развитии

центральной сенситизации, которая лежит в основе не только гипералгизии, но и хронификации различных видов боли. Эффективная профилактика частых приступов головной боли способствует предупреждению центральной сенситизации и трансформации цефалгии в хроническую форму.

В нашем исследовании антиконвульсанты проявляли особенно высокую эффективность у больных с аллодинией, развивающейся во время приступа головной боли, поскольку позитивные результаты лечения у этой категории больных были в 85–100% случаев во всех сравниваемых группах. В то же время среди всех пациентов с ХЕГБ доля больных с аллодинией не превышала 30–35%. Следовательно, можно считать, что наличие аллодинии во время приступа головной боли у пациентов с ХЕГБ является предиктором высокой эффективности антиконвульсантов.

Ряд экспериментальных данных свидетельствует, что профилактическое действие антиконвульсантов при ХЕГБ может быть связано с ингибированием натриевых и высоковольтажных кальциевых каналов нейронов. Антиконвульсанты ингибируют синтез возбуждающей аминокислоты глутамата и проявляют свойства антагонистов NMDA-рецепторов, они уменьшают периферическую и центральную сенситизацию, имеющую большое значение в механизмах хронификации боли [12]. Топирамат модулирует активность тригеминоvascularной системы и препятствует развитию не только приступа мигрени, но и других цефалгий [13]. На сегодняшний день не ясно, какой из этих механизмов или их сочетание является наиболее важным для успешного лечения хронической мигрени и других ХЕГБ.

Таким образом, данные нашего клинического сравнительного исследования свидетельствуют о высокой эффективности amitriptилина, милнаципрапа и антиконвульсантов при лечении ХЕГБ, а очевидным преимуществом эсциталопрама и топирамата является хорошая переносимость.

Литература

1. Амелин А. В., Игнатов Ю. Д., Скоромец А. А. Мигрень. Патогенез, клиника и лечение. СПб.: Санкт-Петербургское медицинское издательство, 2001. 200 с.
2. Данилов А. Б. Нейропатическая боль. М.: Нейромедиа, 2003. 60 с.
3. Мосолов С. Н. Клиническое применение антидепрессантов. СПб.: Медицинское информационное агентство, 1995.
4. Табеева Г. Р., Вейн А. М. Хроническая ежедневная головная боль // *Consilium medicum*. 1999. Т. 1. № 2. С. 66–72.
5. Яхно Н. Н. Применение противосудорожных препаратов для лечения хронических неврогенных болевых синдромов // *Антиконвульсанты в психиатрической и неврологической практике* / Под ред. А. М. Вейн, С. Н. Мосолова. СПб.: Медицинское информационное агентство, 1994. 36 с.
6. Dodick D. W. Chronic daily headache // *N. Engl. J. Med.* 2006. Vol. 354. № 8. P. 884.
7. Freitag F. G., Collins S. D., Carlson H. A. et al. A randomized trial of divalproex sodium extended-release tablets in migraine prophylaxis // *Neurology*. 2002.
8. Lanteri-Minet M., Auray J. P., El Hasnaoui A. Prevalence and description of chronic daily headache in the general population of France // *Pain*. 2003. Vol. 102. P. 143–149.
9. Limmroth V., Katsarava Z. Medication overuse headache // *Curr. Opin. Neurol.* 2004. Vol. 17. P. 301–306.
10. Peatfield R., Dodick D. W. *Fast facts-Headaches*. 2 ed. Oxford: Health Press, 2003. P. 75.
11. Silberstein S. D., Neto W., Schmitt J. et al. Topiramate in migraine prevention: results of a large controlled trial // *Arch. Neurol.* 2004. Vol. 61. P. 490–495.
12. Shank R. P., Gardocki J. F., Streeter A. J., Maryanoff B. E. An overview of the preclinical aspects of topiramate: pharmacology, pharmacokinetics, and mechanism of action // *Epilepsia*. 2000. Vol. 41 (Suppl 1). P. S3–S9.
13. Storer R. J., Goadsby P. J. Topiramate inhibits trigeminovascular neurons in the cat // *Cephalalgia*. 2004. Vol. 24. P. 1049–1056.
14. Wallace J. M. Update on pharmacotherapy guidelines for treatment of neuropathic pain // *Curr. Pain Headache rep.* 2007. Jun. Vol. 11 (3). P. 208–214.
15. Wang S. J., Fuh J. L., Lu S. R., Juang K. D. Quality of life differs among headache diagnoses: analysis of SF-36 survey in 901 headache patients // *Pain*. 2001. Vol. 89. P. 285–292.
16. Welch K. M., Goadsby P. J. Chronic daily headache: nosology and pathophysiology // *Curr. Opin. Neurol.* 2002. Vol. 15. P. 287–295.

**ФАКТОРЫ РИСКА ФОРМИРОВАНИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ
У ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО ВОЗРАСТА**

*ЛАВРОВА О. В., ПЕТРОВА М. А., член-корреспондент РАМН ФЕДОСЕЕВ Г. Б.,
ИВАЩЕНКО Т. Э., ШАПОВАЛОВА Е. А., КЕЛЕМБЕТ Н. А., ЧЕРМЕНСКИЙ А. Г.,
ЗАХАРОВА М. Н., ВАХАРЛОВСКАЯ М. В.*

*Научно-исследовательский институт пульмонологии, кафедра госпитальной терапии
им. акад. М. В. Черноруцкого Санкт-Петербургского государственного медицинского
университета им. акад. И. П. Павлова,
ГУ «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта
РАМН», Санкт-Петербург*

Лаврова О. В., Петрова М. А., Федосеев Г. Б., Иващенко Т. Э., Шаповалова Е. А., Келембет Н. А., Черменский А. Г., Захарова М. Н., Вахарловская М. В. Факторы риска формирования бронхиальной астмы у детей младшего возраста // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 69–75. Научно-исследовательский институт пульмонологии, кафедра госпитальной терапии им. акад. М. В. Черноруцкого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, 197022, ул. Рентгена, д. 12; ГУ «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН», Санкт-Петербург, 199034, Менделеевская линия, д. 3.

Изучались различные факторы, влияющие на возникновение состояний, предрасполагающих к бронхиальной астме, и ее дебют у детей, родившихся от матерей, страдающих этим заболеванием. С этой целью обследованы дети 194 женщин, страдающих бронхиальной астмой (БА) аллергического генеза. Матерям проведено комплексное клинико-функциональное обследование, исследование генов GSTT1, GSTM1 методом PCR; акушером-гинекологом осуществлялось клиническое наблюдение, динамическое ультразвуковое исследование, доплерометрия фетоплацентарного комплекса, исследование системы гемостаза. На всех этапах осуществлялись мероприятия по первичной профилактике заболеваний аллергического круга у детей. Дети находились под наблюдением педиатра-аллерголога, проводилось клинико-генетическое исследование, анализ специфических IgE. Полученные данные подтверждают значение в формировании атопических заболеваний у детей, рожденных матерями, страдающими БА, ряда внешних и внутренних факторов. Наиболее существенными из числа первых следует считать: нарушения диеты матерью во время беременности и в период грудного вскармливания, кратковременность грудного вскармливания, непереносимость ребенком белка коровьего молока. Показана роль осложнений беременности и родов. Значимым внутренним фактором является принадлежность ребенка к GSTM1 0/0 и GSTT1 0/0 генотипам. Доказана положительная роль установления адекватного контроля над БА во время беременности в отношении развития аллергической патологии у детей.

Ключевые слова: бронхиальная астма, беременность, дети, генетика.

Lavrova O. V., Petrova M. A., Fedoseev G. B., Ivaschenko T. E., Shapovalova E. A., Kelembet N. A., Chermensky A. G., Zaxarova M. N., Vaxarlovskaja M. V. About the risk of BA formation in early kids, born by BA females // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 3. P. 69–75. Research Institute of pulmonology of I. P. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, 197022; Ott Institute of Obstetrics and Gynecology of the Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg, 199034.

Study of different factors, influencing the appearance of the conditions, predisposing to BA, and BA onset in kids, born by BA pregnant. 194 kids, born by females with allergic BA, were studied. Mothers were performed complex clinico-functional examination. In mothers GSTT1 and GSTM1 genes were studied with PCR method. Clinical follow-up, dynamic ultrasound examination Doppler measurements of fetoplacental complex and haemostasis investigation were carried out by obstetrician. Primary prophylaxis of allergic pathology in kids was performed at every stage. Kids were followed-up by pediatrician-allergologist. Special clinical genetic study was performed as well as analysis of specific IgE. The proving data about significance of different internal and environmental factors in atopic diseases formation in kids, born by BA females were acquired. Diet violations while pregnancy and breast feeding, short term of pure breast feeding and cow's milk protein intolerance are concerned to be the most important factors. Also the role of pregnancy complication was shown. Affiliation of the kid to GSTM1 0/0 and GSTT1 0/0 genotypes seems to be a significant factor. Positive influence of adequate BA control during pregnancy to allergic pathology development in kids was demonstrated.

Key words: bronchial asthma, pregnancy, children, genetic study.

В 2001 г. Barker D. J. [7] высказана идея о том, что большинство факторов окружающей среды определяют развитие атопического процесса еще в пренатальном периоде. Рекомендации «Глобальной стратегии по лечению и профилактике БА» пересмотра 2006 г.

[16] в качестве первоочередных профилактических мероприятий выделяют предупреждение аллергической сенсibilизации (т. е. развития атопии), которая, вероятно, играет наиболее важную роль в развитии БА. Эти мероприятия могут осуществляться в пре-

натальном и перинатальном периодах. К роли пренатального периода в формировании аллергических заболеваний в последние годы обращено внимание многих исследователей во всем мире. В настоящее время отсутствуют рекомендации по профилактике пренатальной аллергической сенсибилизации, однако нет сомнений в том, что анализ состояния материнского организма, являющегося окружающей средой для плода в течение 9 мес, может быть основанием для их создания.

Целью настоящего исследования явилось изучение различных факторов, влияющих на возникновение состояний, предрасполагающих к бронхиальной астме, и ее дебют у детей, родившихся от матерей, страдающих этим заболеванием.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для решения поставленной задачи были обследованы дети 194 женщин в возрасте от 17 до 43 лет (средний возраст составил $27,73 \pm 5,2$ года), страдающих бронхиальной астмой аллергического генеза и наблюдавшихся нами с ранних сроков беременности совместно с акушерами-гинекологами НИИАГ им. Д. О. Отта по специально разработанной программе [15]. Всем больным было проведено амбулаторно комплексное клиничко-функциональное исследование. На основании данных обследования разрабатывался индивидуальный план профилактических и лечебных мероприятий. Осуществлялось обучение беременных. Лечение проводилось в соответствии с тяжестью течения и фазой заболевания, с учетом категории безопасности FDA применяемых препаратов. Состояние всех пациенток мониторировалось вплоть до родоразрешения, наблюдение проводилось и в послеродовом периоде.

Комплекс обследования включал:

- функциональное исследование системы внешнего дыхания методами спирометрии, общей плевтизмографии, проведение пробы с β_2 -адреномиметиком;
- регулярное клиническое наблюдение пациенток акушером-гинекологом, генетическое исследование, ультразвуковое обследование в I, II, III триместрах, доплерометрию фетоплацентарного комплекса, исследование системы гемостаза, определение содержания хорионического гонадотропина и α -фетопротеина в сыворотке крови на сроке 15–16 нед, определение содержания общей и плацентарной щелочных фосфатаз в сыворотке крови в 28–32 нед;
- лечебно-профилактические мероприятия, направленные на коррекцию акушерско-гинекологической патологии. I триместр: уточнение необходимости поддерживающей гормональной терапии; II триместр: лечение угрозы прерывания бе-

ременности, урогенитальных инфекций, профилактика плацентарной недостаточности; III триместр: улучшение маточного кровотока, профилактика и лечение фетоплацентарной недостаточности, профилактика и лечение гестозов, индивидуальная подготовка к родам;

- исследование генов GSTT1, GSTM1 методом PCR.

По результатам клиничко-функционального исследования и динамического наблюдения в течение всего срока гестации всем больным уточнялся диагноз. Диагностика формы и тяжести течения БА осуществлялась на основании международных согласительных документов [6]. В исследованной группе преобладали больные с легким течением заболевания (табл. 1).

Таблица 1

Степень тяжести бронхиальной астмы в группе матерей

Степень тяжести бронхиальной астмы	Число больных	%
Дебют бронхиальной астмы	14	7,2
Бронхиальная астма легкого течения, эпизодическая	77	39,7
Бронхиальная астма легкого течения, персистирующая	64	32,9
Бронхиальная астма средней тяжести течения, персистирующая	35	18
Бронхиальная астма тяжелого течения, персистирующая	4	2,1
Всего	194	100

На фоне беременности улучшение течения заболевания было отмечено у 19 больных (10,5%), отсутствие изменений – у 55 (30,6%), ухудшение течения – у 106 (58,9%). Признаки сенсибилизации бытовыми аллергенами имелись у 175 больных (90,2%), эпидермальными – у 98 (50,5%). Поллиноз зарегистрирован у трети пациенток. Более 60% (108) больных обратились к пульмонологу в фазе обострения заболевания, причем в 33,5% случаев (65) выраженность обострения была расценена как средней тяжести и тяжелая.

Причинами возникновения обострения заболевания были: контакт с аллергеном – у 28 (25,9%), острая респираторная вирусная инфекция – у 26 (24,1%) пациенток. Воздействие раздражителей отмечено в 12 случаях (11,1%), 35 пациенток (32,4%) отмечали связь обострения заболевания с наступлением беременности.

Значительная часть обследованных больных курила (80 – 41,2%) до беременности, но прекратила курение в I триместре, 15 (7,7%) пациенток продолжали курить.

У большей части пациенток имелись сопутствующие заболевания: хронический гастродуоденит и язвенная болезнь луковицы 12-перстной кишки – у 54 (27,8%), патология щитовидной железы – у 29 (14,9%), хронический пиелонефрит – у 23 (11,8%). В 57,7% случаев (у 112 женщин) диагностирована анемия.

При исследовании функционального состояния системы внешнего дыхания у 78,4% пациенток выявлены обратимые или частично обратимые обструктивные нарушения вентиляционной способности легких разной степени выраженности. До наступления беременности базисную терапию ингаляционными глюкокортикостероидами (ИГКС) получали 35 пациенток (18%), в период беременности она была назначена 152 (78,4%), однако лишь 78 (40,2%) женщин планомерно выполняли рекомендации пульмонолога.

В исследованной группе первородящих было 66% (128), повторнородящих – 26% (50), имеющих 3 и более детей – 8% (16). Предыдущие беременности закончились родами в 43% случаев, искусственными абортми – в 29%, самопроизвольными выкидышами – в 21%, антенатальной гибелью плода – в 7%.

При оценке течения беременности в группе женщин, страдающих БА, развитие токсикоза легкой и средней степени тяжести отмечено у 106 пациенток (54,6%), гестоз диагностирован у 88 (45,4%), преобладали легкие формы гестоза.

Родоразрешилось 160 (82,5%) пациенток в срок, у 18 (9,3%) были преждевременные роды, у 16 (8,2%) – запоздалые. Кесарево сечение проведено в 21,6% случаев по акушерским показаниям (слабость родовой деятельности, гестоз, крупный плод и пр.).

После родов неонатологом проводилась оценка состояния ребенка, давались рекомендации, направленные на предотвращение сенсibilизации организма, включавшие две основных группы мероприятий.

I. Меры по развитию толерантности (невосприимчивости) к аллергенам:

- сохранение полностью грудного вскармливания ребенка по меньшей мере до 6 мес жизни;
- при транзиторной гипогалактии в течение первых трех-четырех дней жизни ребенка рекомендовалось вводить только воду;
- из рациона матерей на период лактации исключалось коровье молоко, так как антигены его могут присутствовать и в грудном молоке;
- при развитии гипогалактии в качестве альтернативы грудному молоку рекомендовались высокогидролизированные смеси, введение соков и прикормов рекомендовалось только после 6-го месяца жизни ребенка.

II. Элиминационные мероприятия (разобщение с аллергеном).

Рекомендовалось максимальное ограждение ребенка от действия различных групп аллергенов:

- создание гипоаллергенного быта;
- назначение гипоаллергенной диеты в соответствии с национальными рекомендациями [1].

Дети находились под наблюдением педиатра-аллерголога, проводилось исследование специфических IgE в сыворотке крови иммуноферментным методом.

Частоты нулевых аллелей генов GSTM1, GSTT1 у больных БА и новорожденных исследованы методом полимеразной цепной реакции. Контрольную группу составили 90 здоровых доноров Северо-Западного региона России. Смесь для амплификации объемом 25 мкл включала 15 нМ каждого праймера, 67 мМ трис-HCl, pH 8,8, 16,6 мМ сульфата аммония, 6,7 мМ MgCl₂, 6,7 мкМ ЭДТА, 10 мМ меркаптоэтанол, 170 мкг BSA, 1,0 мМ каждого dNTP и IU ДНК-полимеразы (производства "Бион", Москва). Для амплификации фрагмента генов GSTM1 и GSTT1 использовали следующие условия ПЦР: после денатурации (94°C, 7 мин) проводили 32 цикла амплификации в режиме 94°C – 1 мин; 53°C – 1 мин; 72°C – 1 мин 20 сек. После амплификации анализировали продукты реакции в 7,0% полиакриламидном геле с последующей окраской этидиумбромидом и визуализацией в проходящем УФ свете. Гомозигот и гетерозигот по нормальному аллелю «+» определяли на электрофореграммах наличием продукта амплификации размером 271 п. о. для GSTM1 и фрагмента 315 п. о. для GSTT1. Отсутствие соответствующих фрагментов указывало на гомозиготность индивидуума по делеции одного из генов. В качестве внутреннего контроля использовали амплификацию фрагмента гена CFTR (экзон 10).

Статистический анализ проводился на персональном компьютере «Pentium-III» с использованием пакета программ «SPSS 12. 0 for Windows» (русская версия).

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

В качестве признаков, значимых для последующего формирования БА у детей, рожденных матерями, страдающими этим заболеванием, рассматривались: вес и рост новорожденного, его генотип, появление атопического дерматита (АД), склонность к острым респираторным заболеваниям (чаще 3 раз за год) на первом году жизни и в последующем, рецидивирующие бронхиты, появление бронхообструктивного синдрома (БОС). Отдельно проанализирована группа детей с дебютом бронхиальной астмы. Анализ перечисленных показателей был проведен в зависимости от степени тяжести и контролируемос-

ти БА у матери, наличия и характера осложнений беременности, генотипа ребенка, воздействия отрицательных факторов внешней среды на организм беременной и ребенка.

Средние показатели веса и роста детей при рождении составили 3320 г и 50,5 см. Мальчики были тяжелее девочек в среднем на 237,2 г ($p \leq 0,002$) и выше ростом на 1,4 см ($p \leq 0,02$). Количество детей с весом меньше 2900 г составило 11,3% от общего числа наблюдаемых, среди них девочек было в 3 раза больше, чем мальчиков. Рост меньше 50 см отмечен у 17,5% новорожденных: у 24,7% девочек и 11,9% мальчиков. Достаточно высоким оказался процент детей с весом больше 3500 г – 39,2% с полуторакратным преобладанием среди них лиц мужского пола.

Следует отметить, что полученные в нашем исследовании антропометрические данные, касающиеся детей, родившихся у матерей, страдающих БА, практически не отличались от средних показателей новорожденных по Санкт-Петербургу в аналогичные годы (2002–2005).

В ходе дальнейшего анализа были получены данные, свидетельствующие об отрицательном влиянии на антропометрические показатели новорожденных наличия плацентарной недостаточности и принадлежности ребенка к генотипу GSTT10/OGSTM1 0/0. Наличие плацентарной недостаточности было диагностировано у 45 беременных, у 149 она отсутствовала. Средний вес детей в группе с наличием плацентарной недостаточности составил 3135 г, с отсутствием таковой – 3420 г ($p = 0,003$), аналогичная закономерность получена и в отношении роста – 50,1 и 51,4 см соответственно ($p = 0,0009$). Анализ среднего веса и роста новорожденных в зависимости от степени тяжести БА у матери не показал существенных различий, однако при сопоставлении антропометрических данных детей, родившихся у матерей с БА, впервые возникшей в период данной беременности (дебют), и матерей, страдающих среднетяжелой персистирующей БА, были выявлены достоверные различия. Средний вес детей, родившихся у матерей с впервые возникшей БА, составил 3614 г, с БА среднетяжелого течения – 3281 г ($p = 0,037$), рост – 52 и 50,5 см соответственно ($p = 0,05$).

Исследование генотипов GSTT1 и GSTM1 выполнено у 76 детей наблюдаемой группы. Носительство «нулевых» аллелей генов (GSTT10/OGSTM10/0) отмечено у 11 детей. Их средний показатель веса составил 3062,3 г, в то время как у детей с генотипом GSTT1+GSTM1+ ($n = 32$) – 3505,6 г ($p = 0,002$), в отношении показателей роста отмечена аналогичная тенденция – 49,8 и 51,7 см соответственно. Не выявлено отчетливых влияний на антропометрические показатели детей наблюдаемой группы других

осложнений беременности (токсикоз, гестоз, угроза прерывания).

Как известно, атопический дерматит служит первым проявлением атопического синдрома и в высоком проценте случаев предшествует формированию бронхиальной обструкции. Атопический дерматит в наблюдаемой группе детей возник у 146 или у 75% общего их числа. Наиболее частыми причинами дерматита были следующие: введение прикорма – у 34,9% детей, введение смеси – у 19,2%, нарушение диеты матерью – у 15,1%. Значимость лекарственных аллергенов отмечена в 9,6% случаев. Как следует из представленных данных, самыми частыми аллергенами выступили пищевые. В то же время средняя продолжительность чисто грудного вскармливания у наблюдаемых детей составила лишь 3,7 мес.

Также был проанализирован средний возраст манифестации атопического дерматита в зависимости от причины его возникновения. При нарушениях диеты матерью АД появлялся в среднем в 2-месячном возрасте, средний возраст возникновения этого заболевания на фоне введения смесей – 2,7 мес, введения прикорма – 5,9 мес. Следует отметить, что атопический дерматит у детей с аллергией на молоко (коровье, $n = 58$) отмечен в 93% случаев, а среди всех детей с атопическим дерматитом ($n = 146$) аллергия на молоко отмечена у 37%.

Нами было показано, что частота встречаемости АД существенным образом связана с состоянием здоровья матери во время беременности. Так, частота токсикоза у матерей, родивших детей, страдающих атопическим дерматитом, была в 2 раза выше, чем у тех, чьи дети не страдали этим заболеванием (63,5 и 30,8% соответственно). Аналогичная тенденция имела и в отношении частоты гестоза (48,2 и 36,2%). Не отмечено достоверной связи между возникновением атопического дерматита у детей и степенью тяжести течения БА у матерей. Однако, на наш взгляд, определенный интерес представляет факт наименьшей встречаемости дерматита у детей, чьи матери заболели БА впервые в период данной беременности, в также почти равная и высокая частота дерматита у больных с легкой персистирующей и тяжелой БА, при меньшей частоте у больных с бронхиальной астмой средней тяжести течения, что, по-видимому, связано не с тяжестью БА как таковой, а с ее контролируемостью во время беременности (табл. 2).

Дальнейший анализ показал, что частота дерматита в группах детей, чьи матери получали адекватное лечение ИГКС, была достоверно ниже, чем у детей, чьи матери адекватного лечения не получали (табл. 3). Обращал на себя внимание тот факт, что эта закономерность касалась только лиц мужского пола. Как следует из данных, представленных в табл. 3, у мальчиков, чьи матери не получали ИГКС, дерматит

Частота встречаемости атопического дерматита у детей при различной тяжести течения бронхиальной астмы у их матерей

	Дебют		Легкая эпизодическая		Легкая персистирующая		Средней тяжести течения		Тяжелого течения	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Всего, n=194	14		91		58		27		4	
Есть атопический дерматит, n=137	7	50,0	66	72,5	45	77,6	16	59,3	3	75
Нет атопического дерматита, n=57	7	50,0	25	27,5	13	22,4	11	40,7	1	25

Таблица 3

Частота развития атопического дерматита у детей в зависимости от адекватности лечения матерей во время беременности

	Получали лечение ИГКС	У детей атопический дерматит		Не получали лечения ИГКС	У детей атопический дерматит	
		Абс.	%		Абс.	%
Всего	78	44	56,4	50	36	72*
Мальчики	39	21	53,9	27	22	81,5*
Девочки	39	23	59	23	14	60,9

* $p \leq 0,05$.

возник в 81,5% случаев, а у мальчиков, чьи матери получали лечение этими препаратами, – в 53,9% ($p \leq 0,05$). Что касается девочек, то частота встречаемости атопического дерматита в рассматриваемых группах была почти равной. Анализ генетических особенностей детей, страдающих атопическим дерматитом, показал больший процент встречаемости среди них носителей генотипа GSTM1 0/0 по сравнению с детьми без дерматита (58,3 и 33,3% соответственно, $p \leq 0,05$). Встречаемость «нулевых» аллелей GSTT1 и GSTM1 отмечена у 10% детей с атопическим дерматитом и у 6% без такового.

Частые ОРВИ и рецидивирующие бронхиты (3 и более раз в год) наблюдались у 21,6 и 18% детей соответственно, несколько чаще у мальчиков, чем у девочек (для детей старше года – ОРВИ достоверно чаще). По полученным нами данным не выявлено отчетливой зависимости возникновения этих заболеваний у детей от тяжести течения БА и осложнений беременности у их матерей. Несколько больший процент детей, часто болеющих ОРВИ, отмечен в группе матерей, не получавших адекватного лечения бронхиальной астмы (22%), для сравнения – в группе получавших – 14,1% (различия недостоверны).

Наиболее интересным представлялся анализ групп детей, у которых в процессе наблюдения были эпизоды бронхообструктивного синдрома (БОС) и дебютировала бронхиальная астма. Развитие БОС отмечено у 13,9% детей, 17,6% мальчиков и 9,8% девочек ($p \leq 0,05$), и в подавляющем числе случаев наблюдалось на фоне ОРВИ. Бронхиальная астма в наблюдаемой группе возникла у 13 детей (6,7%),

11 мальчиков (10,8%) и 2 девочек ($p \leq 0,05$). Средний возраст, в котором этот диагноз был поставлен, составил 1 год 9 мес. Следует отметить, что средние показатели веса в группе детей, у которых отмечены бронхиальная обструкция и БА, при рождении, а также в возрасте одного года достоверно не отличались от таковых у детей без бронхиальной обструкции, а также от среднестатистических показателей по Санкт-Петербургу.

В качестве внешних факторов, значимых в формировании обструктивного синдрома, наиболее часто встретившихся в наблюдаемой группе, могут быть отмечены нарушение диеты матерью при грудном вскармливании (41,2%) и признаки непереносимости ребенком коровьего молока (29,4%). При сопоставлении частоты встречаемости этих признаков у детей с бронхиальной астмой и без таковой получены достоверные различия: 61,5 и 39,8% ($p = 0,04$) для первого признака и 61,5 и 26,5% ($p = 0,05$) – для второго. Более чем у 75% детей с бронхиальной обструкцией и бронхиальной астмой имел место атопический дерматит.

Данные о влиянии осложнений беременности на формирование обструкции у детей, рожденных матерями, страдающими БА, представлены в табл. 4. Отмечается достоверное преобладание гестозов у матерей, чьи дети в последующем имели БОС, по сравнению с теми, у чьих детей он не сформировался. При анализе других осложнений беременности подобных различий выявить не удалось. Данные, представленные в табл. 4, в отношении лечения беременных демонстрируют, что

Частота развития синдрома бронхиальной обструкции у детей в зависимости от адекватности лечения матерей во время беременности

Матери	Всего	Синдром бронхиальной обструкции		Бронхиальная астма	
		Абс.	%	Абс.	%
Не было токсикоза	90	15	16,67	7	7,78
Был токсикоз	104	14	13,46	7	6,73
Не было гестоза	101	8	7,92	5	4,95
Был гестоз	93	19	20,43*	9	9,68*
Без терапии	47	6	12,77	3	6,38
Терапия ИГКС	75	8	10,67	4	5,33
Терапия без включения ИГКС	72	13	18,06*	7	9,72*

* $p = 0,05$.

минимальная частота возникновения обструкции наблюдалась у детей, чьи матери во время беременности получали ИГКС. Однако эти результаты могут рассматриваться лишь как тенденция и нуждаются в дальнейшем уточнении. Генотип детей с БОС отличался от такового у детей без обструкции большей частотой встречаемости вариантов GSTM1 0/0 – 62,5 и 43,4% ($p=0,05$), а также сочетания «нулевых» аллелей GSTT1 0/0 и GSTM1 0/0 – 18,8 и 10,5% ($p=0,05$) соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные в настоящем исследовании данные демонстрируют значимость и в определенной степени коррелируемость многих факторов, предрасполагающих к развитию БОС и, в частности, БА у детей в возрасте 3 лет. В ходе динамического наблюдения за детьми, которые были рождены матерями, страдающими БА, продемонстрирована этапность формирования атопического синдрома (пищевая аллергия – АД – БОС – БА), показана высокая значимость полноценного грудного вскармливания, отрицательная роль пищевых аллергенов, в первую очередь коровьего молока. Эти данные являются достаточно известными и полностью совпадают с сообщениями других авторов [5].

В литературе встречаются многочисленные указания на маловесность новорожденных, родившихся у матерей, страдающих БА [14, 13, 9]. Низкий вес при рождении рассматривается как фактор риска формирования БА в последующей жизни [15]. В качестве основных причин малого веса доношенных детей выступают различные осложнения беременности. Анализ полученных нами антропометрических данных новорожденных не выявил их существенного отклонения от популяционных по Санкт-Петербургу, однако 11,3% детей имели при рождении вес менее 2900 г. Показана связь веса новорожденных с их генотипом и наличием у матери плацентарной

недостаточности. Дети носители «нулевых» аллелей генов GSTT1 и GSTM1 имели достоверно меньший вес, чем дети с нормальным генотипом. В настоящем исследовании значимость «нулевых» аллелей показана и в отношении формирования атопического дерматита и дебюта БА у обследованных детей. Эти результаты согласуются с собственными данными, опубликованными ранее [6], и результатами других авторов в отношении больных БА взрослых и детей [2]. Возникновение атопических состояний у детей существенным образом связано с наличием у беременных, больных БА, осложнений беременности, в первую очередь токсикоза и гестоза. В ряде работ было показано, что уже в первые месяцы жизни у большинства детей, матери которых перенесли тяжелый гестоз, наблюдаются аллергические реакции, высокая заболеваемость ОРВИ [3, 4]. В исследовании Nafstad P. et al. [12] при анализе состояния здоровья полутора миллионов детей, достигших 18-летнего возраста, оказалось, что такие осложнения беременности, как преэклампсия, плацентарная недостаточность, приводят к возрастанию риска развития БА у детей. В исследовании Brooks K. et al. [8] при оценке состояния здоровья 1000 детей была выявлена связь осложнений беременности матери с повышенным риском развития поллиноза у ребенка. По мнению Holt P. G. [10], предрасположенность к аллергическим заболеваниям может быть связана с гиперактивностью контролирующих механизмов, которые внутриматочно осуществляют защиту фетоплацентарного комплекса от токсических эффектов Th-1 цитокинов, характерных для осложненного течения беременности, и, как следствие, со сдвигом внутриматочной среды в сторону Th-2 фенотипа.

В настоящем исследовании не было получено данных в отношении зависимости развития атопических заболеваний у детей от тяжести течения БА у матерей, но выявлена отчетливая связь с контролируемостью этого заболевания у матери. Наименьший процент аллергических проявлений отмечен у детей,

чи матери получали ИГКС, особенно отчетливо этот факт прослежен у мальчиков. Девочки не показали такой закономерности, что, возможно, объясняется дополнительным влиянием эстрогенов на матерей, вынашивающих плод женского пола. Этим же объясняют и большую частоту токсикозов у женщин, родивших девочек [11].

Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты подтверждают положение о возможности и необходимости активной профилактики аллергических заболеваний, и в частности БА, у детей, родившихся у матерей, страдающих этим заболеванием. Комплекс профилактических мероприятий требует соблюдения правил гипоаллергенного быта как для матери, так и для ребенка, профилактики осложнений беременности и обеспечения адекватного лечения БА во время беременности.

Литература

1. Атопический дерматит и инфекции кожи у детей: диагностика, лечение и профилактика: Науч.-практ. программа / Под ред. Д. С. Коростовцева. М.: Союз педиатров России, 2004. 52 с.
2. Гавалов С. М., Рябова О. А., Ляхнович В. В., Вавилин В. А. Гено- и фенотипические характеристики системы биотрансформации ксенобиотиков при бронхиальной астме у детей // *Астма*. 2000. Т. 1. № 1. С. 27–35.
3. Ермакова М. К. Аллергические болезни органов дыхания у детей и подростков Удмуртии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.09 / Ижевск. гос. мед. акад. М., 2000. 40 с.
4. Кирющенко А. П. Влияние вредных факторов на плод. М.: Медицина, 1978. 215 с.
5. Смирнова Г. И. Механизмы развития и новые возможности лечения атопического дерматита у детей // *Рос. аллергол. журн.* 2004. № 3. С. 58–67.
6. Федосеев Г. Б., Лаврова О. В., Петрова М. А. и др. Клинико-диагностические и организационные подходы к ведению беременных, страдающих бронхиальной астмой, как основа первичной профилактики аллергических заболеваний у их детей // *Рос. аллергол. журн.* 2006. № 1. С. 21–28.
7. Barker D. J. A new model for the origins of chronic disease // *Med. Health Care Philos.* 2001. Vol. 4. № 1. P. 31–35.
8. Brooks K., Samms-Vaughan M., Karmaus W. Are oral contraceptive use and pregnancy complications risk factors for atopic disorders among offspring? // *Pediatr. Allergy Immunol.* 2004. Vol. 15. № 6. P. 487–496.
9. Chazotte C. Asthma in pregnancy: A rev. // *J. Assoc. Acad. Minor. Phys.* 1994. Vol. 5. № 3. P. 107–110.
10. Holt P. G. Prenatal versus postnatal sensitization to environmental allergens in a high-risk birth cohort // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007. Vol. 119. № 5. P. 1164–1167.
11. Murphy V. E., Gibson P. G., Giles W. B. et al. Maternal asthma is associated with reduced female fetal growth. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003. Vol. 168. № 11. P. 1317–1323.
12. Nafstad P., Samuelsen S. O., Irgens L. M., Bjerkedal T. Pregnancy complications and the risk of asthma among Norwegians born between 1967 and 1993 // *Eur. J. Epidemiol.* 2003. Vol. 18. № 8. P. 755–761.
13. Perlow J. H., Montgomery D., Morgan M. A. et al. Severity of asthma and perinatal outcome // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1992. Vol. 167. № 4. Pt. 1. P. 963–967.
14. Schatz M., Zeiger R. S., Hoffman C. P. Intrauterine growth is related to gestational pulmonary function in pregnant asthmatic women // *Chest.* 1990. Vol. 98. № 2. P. 389–392.
16. The Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Revised 2006.
15. The Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Revised 2002.

ПУНКЦИОННАЯ ВЕРТЕБРОПЛАСТИКА У ПАЦИЕНТОВ С НЕОСЛОЖНЕННЫМИ КОМПРЕССИОННЫМИ ПЕРЕЛОМАМИ ТЕЛ ПОЗВОНКОВ НА ФОНЕ СИСТЕМНОГО ОСТЕОПОРОЗА

МАНУКОВСКИЙ В. А., КАНДЫБА Д. В., ФЕДОРЕНКОВ А. В., БОЙКОВ И. В.

Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова,
Санкт-Петербург

Мануковский В. А., Кандыба Д. В., Федоренков А. В., Бойков И. В. Пункционная вертебропластика у пациентов с неосложненными компрессионными переломами тел позвонков на фоне системного остеопороза // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 76–83. Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, 194175, ул. Академика Лебедева, 6.

В отношении лечения пациентов с неосложненными компрессионными переломами тел позвонков на фоне остеопороза врачи постоянно стояли перед выбором: проводить консервативную терапию в течение не менее 4 мес или выполнять открытую операцию. Ни тот, ни другой метод в полной мере не решал поставленных задач. Перелом в тактике лечения произошел в 1984 г. после внедрения пункционной вертебропластики. Первые результаты операций показали, что введение костного цемента в тело позвонка позволяет восстановить его опороспособность, способствует быстрой консолидации перелома, предотвращает дальнейшее увеличение степени компрессии, обеспечивает хороший обезболивающий эффект. Однако до настоящего времени остается целый ряд вопросов, требующих незамедлительного изучения и проведения анализа полученных результатов.

В клинике нейрохирургии ВМедА за период с 2003 по 2007 г. прооперировано 59 пациентов, выполнено 111 вертебропластик. Разработан современный алгоритм диагностики и лечения больных с компрессионными переломами тел позвонков на фоне остеопороза, сформулированы показания и противопоказания применения вертебропластики при данной патологии, проведено экономическое обоснование применения методики костной пластики у больных данного профиля. Методика позволила сократить нахождение пациентов в стационаре до 2,5 дней, снизить уровень осложнений, в 93% случаях достигнут регресс болевого и мышечно-тонического синдрома в течение полугода после операции.

Ключевые слова: вертебропластика, компрессионный перелом, позвоночник, остеопороз.

Manukovsky V. A., Kandyba D. V., Fedorenkov A. V., Boikov I. V. Puncture vertebroplasty of patients with noncomplicated compression fractures of vertebral bodies against the background of systemic osteoporosis // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 3. P. 76–83. Military Medical Academy, St. Petersburg, 194175.

When it came to treatment of patients with noncomplicated compression fractures of vertebral bodies against the background of osteoporosis, doctors always were faced with the following choice: to carry out conservative therapy within not less than 4 months or to perform an open surgery. Neither method would fully solve the problems put by. The turning point in treatment tactics took place in 1984 after introduction of puncture vertebroplasty. The first results of surgeries have shown that introduction of bone cement into the vertebral body allows to restore its supportability, promotes faster consolidation of fracture, prevents further increase of compression stage, provides good anesthetic effect. However until the present time a number of issues remained, which required immediate study and analysis of the received results.

In the Clinic of Neurosurgery of Military Medical Academy, in the period from 2003 to 2007, 59 patients underwent surgery, 111 vertebroplasties have been performed. The modern algorithm of diagnostics and treatment of patients with compression fractures of vertebral bodies against the background of osteoporosis has been developed, indications and contraindications of application of vertebroplasty at this pathology have been formed, economic justification of the osteoplasty method with the patients of similar profile has been drawn up. This method allowed to reduce the duration of stay of patients in the hospital to 2.5 days, to reduce the level of complications, in 93% regression of pain and muscle-tonic syndrome was observed within six months after the surgery.

Key words: vertebroplasty, compression fracture, spinal column, osteoporosis.

Медицинскую и социальную значимость остеопороз с его осложнениями получил в середине XX века в связи со значительным увеличением количества пожилых людей [2]. Переломы тел позвонков являются одними из самых частых переломов. По данным некоторых авторов [5, 14, 23, 25], от 16 до 25% женщин постменопаузального периода имеют рентгенологически подтвержденные переломы тел позвонков, предрасполагающим фактором которых является остеопороз. Чаще всего они встречаются у

женщин в течение первых 10–20 лет после наступления менопаузы. Частота остеопоротических деформаций тел позвонков у мужчин составляет 10% [11]. По результатам многоцентрового исследования остеопороза позвоночника European Vertebral Osteoporosis Study (EVOS), в 1996 г. в России распространенность переломов тел позвонков в среднем составила 11,8% (14,5% среди женщин и 10% среди мужчин) [11, 15]. Частота остеопоротических деформаций тел позвонков у мужчин колебалась от 7,2%

(Екатеринбург, Москва) [3, 7] до 12% (Ярославль) [6], у женщин – от 7% (Екатеринбург) [7] до 16% (Ярославль) [6].

Чаще всего переломы тел позвонков возникают в грудном отделе позвоночника (ThVI–ThVII) [6] или в переходном грудопоясничном отделе (с ThXI по LI позвонки) [6, 12, 17, 18]. На долю этих отделов приходится от 53,5 до 73% всех повреждений позвоночника [1, 17]. Наиболее часто у лиц обоих полов наблюдаются переломы тела ThXII позвонка [6, 18]. Деформация позвонков выше Th IV нетипична для остеопороза и позволяет заподозрить метастатическое поражение, компрессионный перелом вследствие травмы или спондилита [18].

Самыми распространенными являются клиновидные переломы, которые наиболее часто локализируются в среднегрудном (ThVI–ThVII) и переходном грудопоясничном (ThXI–LI) отделах позвоночника [13, 14]. Вторыми по частоте выявляются двояковогнутые деформации с преимущественным поражением поясничного отдела (LIII–LIV) [13]. Компрессионные деформации связаны со значительным снижением минеральной плотности костной ткани (МПКТ), встречаются реже всего; им могут предшествовать любые другие виды деформаций, поэтому они возникают в любом отделе позвоночника [4].

Наличие предшествующей деформации тела позвонка увеличивает частоту развития новых переломов: при поражении одного тела позвонка риск развития нового перелома повышается на 6,6% в первый год [22], пятикратно к пяти годам, при двух или большем количестве переломов в анамнезе – двенадцатикратно [27].

Проблемы остеопороза и его последствия становятся особенно актуальными на фоне общего старения населения мира. Непрерывный рост средней продолжительности жизни прогнозируется специалистами по крайней мере на ближайшие 30 лет, что окажет огромное влияние на структуру общества. Так, с 1980 по 2000 г. популяция мира в возрасте 60 лет и старше увеличилась на 57,1%, а в возрасте 80 лет и старше – на 68% [8]. При сравнении возрастных групп 50–54 и 75–79 лет наблюдается рост компрессионных деформаций в 5 раз [6, 26]. Центр демографии и экологии человека сообщает, что люди старше 60 лет – самая быстрорастущая группа населения: уже сейчас она составляет 16% всего населения страны, а к 2015 г. составит, видимо, 20%. Пропорционально этому увеличивается и число людей в возрасте 80 лет и старше [10].

До сегодняшнего дня не определена единая лечебная тактика при переломах тел позвонков на фоне остеопороза. Функциональный метод обеспечивает регресс болевого синдрома в течение первых 2 нед,

однако терапия должна продолжаться не менее 4 мес [24]. К недостаткам метода относится отсутствие надежной иммобилизации поврежденного отдела позвоночника на весь период заживления перелома. Консервативное лечение не решает проблемы нарастания кифотической деформации на уровне повреждения, имеющей тенденцию к прогрессированию.

Хирургический метод лечения неосложненных переломов позвонков включает транспедункулярную фиксацию. Однако при выраженном остеопорозе возникает опасность ненадежной фиксации транспедункулярных винтов, обусловленная «плохим качеством кости». В 10% случаях в отдаленном периоде развивается нестабильность систем из-за нарастающей вторичной деформации позвоночного столба [16], в 10–25% случаях установленные системы изменяют заданное положение, мигрируют [20].

Существенный прогресс в решении проблемы компрессионных переломов тел позвонков на фоне остеопороза произошел после внедрения пункционной вертебропластики. Впервые вертебропластика выполнена в 1984 г. [21]. В течение 1987–1988 гг. методика была успешно внедрена для хирургического лечения больных с критическим остеопорозом [22]. Эффективность метода исключительно высока, у 95% больных наблюдается регресс болевого синдрома, пациенты отказываются от систематического приема обезболивающих препаратов, в 85% случаев регрессирует мышечно-тонический синдром [19].

Однако на сегодняшний день вопросы лечения компрессионных переломов тел позвонков на фоне остеопороза остаются неоднозначными. Отсутствуют четкие указания в отношении показаний и противопоказаний к выбору определенного метода лечения, недостаточно четко определен алгоритм диагностики пациентов с данной патологией, имеются разноречивые данные об эффективности различных методов лечения.

Цель исследования – улучшить диагностику и хирургическое лечение больных с системным остеопорозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 59 пациентов с неосложненными компрессионными переломами тел позвонков на фоне системного остеопороза, проходивших лечение в клинике нейрохирургии ВМедА за период с 2003 по 2007 г. Всем больным выполнено оперативное вмешательство – пункционная вертебропластика. Операция проводилась на уровне с ThV по LV позвонки, максимально одномоментно выполнена пластика четырех позвонков. Всего выполнено 111 оперативных вмешательств. Из 59 человек: мужчин

14 (24%), средний возраст 66 ± 8 лет (от 55 до 85 лет); женщин 45 (76%), все находились в пост- или менопаузальном периоде, средний возраст 65 ± 8 лет (от 47 до 81 года). Общий средний возраст пациентов составил 65 ± 8 лет. Оценка эффективности пункционной вертебропластики проводилась в период как нахождения пациентов в клинике нейрохирургии ВМедА, так и последующего амбулаторного наблюдения за больными. В группу сравнения вошли пациенты, которым была проведена консервативная терапия.

Алгоритм обследования пациентов включал ортопедический и нейрохирургический осмотры; биохимическое исследование крови; методы лучевой диагностики: спондилографию деформированного позвонка в стандартных (прямая и боковая) и дополнительных проекциях (по показаниям), КТ с трехмерной реконструкцией пораженного отдела позвоночника, количественную КТ на уровне LII–LIV позвонков. Всем пациентам выполнялась рентгеновская денситометрия шейек бедренных костей, поясничного отдела позвоночника на уровне тел LI–LIV позвонков. Для дифференциального диагноза проводилась консультация гематолога, при повышенном уровне ионизированного кальция выполняли радионуклидную скintiграфию с Tc^{99m} , ультразвуковое сканирование щитовидной и паращитовидных желез, МРТ хиазмально-селлярной области. При подозрении на повреждение межпозвоночного диска и других связочных элементов, стеноз позвоночного канала выполняли МРТ поврежденного отдела позвоночника.

Стандартную количественную компьютерную томографию и денситометрию выполняли на спиральном компьютерном томографе SOMATOM фирмы «Siemens», рентгеновскую томографию – на аппарате LUNAR DPX (рис. 1). Результаты денситометрии получали в T- и Z-критериях.

Под T-критерием понимали отклонение среднего значения МПКТ обследуемого пациента от среднего

значения костной плотности у 20-летних здоровых лиц.

Под Z-критерием понимали величину отклонения средней МПКТ пациента от средней минеральной плотности костной ткани здоровых лиц такого же возраста.

Диагноз остеопороз выставлялся по T-критерию, так как все женщины нашей группы находились в пост- или менопаузе, возраст мужчин был более 50 лет. Остеопороз диагностировали, когда МПКТ была меньше пикового значения костной массы на $-2,5$ SD, в анамнезе имелся патологический остеопоротический перелом.

При объективном обследовании больных проводили оценку общесоматического и неврологического статусов. Выраженность двигательных расстройств, болевого синдрома и эффективность обезболивающих препаратов определяли по шкале качества жизни пациентов и эффективности пункционной вертебропластики J. R. Gaughen и соавт. (2000) (табл. 1), а также по разработанной в клинике нейрохирургии ВМедА «Оригинальной шкале» (табл. 2) до операции, на 2-е, 7-е сут и спустя 6 мес после операции.

На основании полученных результатов, используя «Оригинальную шкалу», внутри каждой группы мы распределили пациентов на 3 категории по степени функциональных нарушений: легкие (сумма баллов от 0 до 3), умеренные (сумма баллов 4–10), выраженные (сумма баллов 11–15).

Пункционную вертебропластику проводили в рентген-операционной. Для интраоперационного рентгеновского контроля применяли флюороскопический аппарат «Angiostar» фирмы «Siemens». Получение и обработку изображения выполняли цифровой системой «Fluorospot H». Результаты архивировались на жестком диске и выводились в цифровом виде.

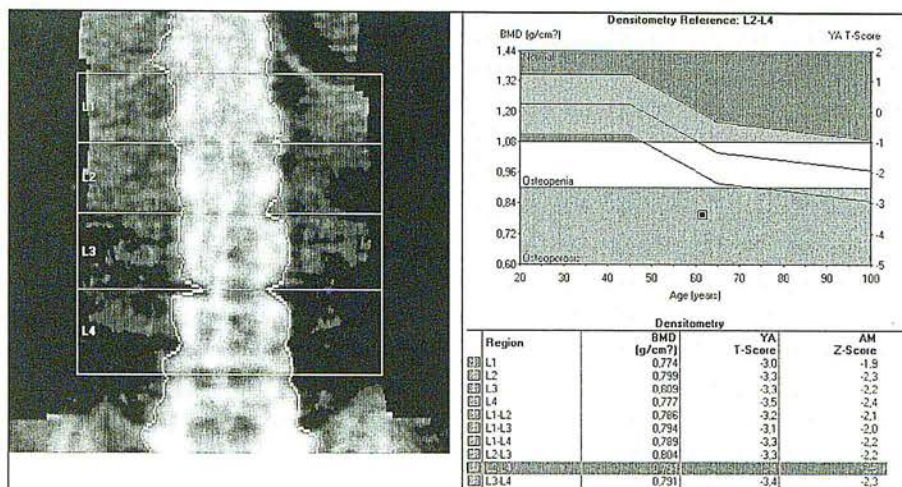


Рис. 1. Денситометрическое исследование на аппарате LUNAR DPX

Таблица 1

Шкала оценки качества жизни пациента и эффективности пункционной вертебропластики, по J. R. Gaughen и соавт. (2000)

Баллы	Выраженность болевого синдрома
0	Отсутствие боли
10	Невыносимая, самая интенсивная боль, какую когда-либо приходилось испытывать больному
Баллы	Двигательная активность
0	Обычная активность без каких-либо ограничений
1	Хождение с посторонней помощью
2	Передвижение на коляске
3	Ограничение сидения в постели
4	Ограничение подвижности в постели
Баллы	Зависимость от анальгетиков
0	Не принимает обезболивающих средств
1	Периодический прием анальгетиков
2	Регулярный прием ненаркотических анальгетиков
3	Регулярный прием ненаркотических анальгетиков с периодическим приемом пероральных наркотических препаратов
4	Регулярный прием пероральных наркотических препаратов
5	Регулярный прием парентеральных наркотических препаратов

Для пункции тел позвонков использовали стандартные иглы фирмы «Cook» и «Stryker» с пирамидальными (рис. 2) и скошенными (рис. 3) концами. Диаметр игл в грудном отделе позвоночника 11 G (3,05 мм), в поясничном – 11–9 G (2,41 мм), длина 15 см.

Диаметр игл не превышал половины ширины корня дуги тела позвонка. Скошенный конец игл позволял при проведении несколько изменять направление, а конусообразный конец способствовал безболезненному ее проведению. Манипуляции выполнялись в условиях сочетанной анестезии.

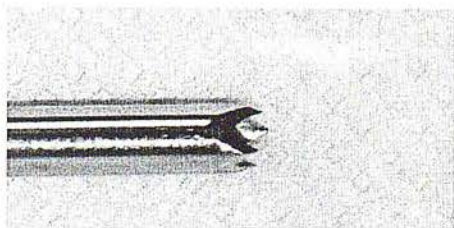


Рис. 2. Пункционная игла с пирамидальным концом фирмы «Cook»

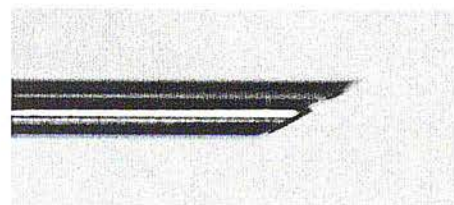


Рис. 3. Пункционная игла со скошенным концом фирмы «Stryker»

Таблица 2

«Оригинальная шкала» качества жизни пациента и оценки эффективности вертебропластики

Баллы	Выраженность локального болевого синдрома (0–5 баллов)
0	Отсутствие боли или незначительная эпизодическая боль
1	Незначительная боль постоянного характера
2	Периодическая боль средней интенсивности
3	Постоянного характера боль средней интенсивности
4	Интенсивная периодическая боль
5	Постоянная боль – интенсивная, вплоть до невыносимой
Баллы	Двигательная активность (0–5 баллов)
0	Физическая активность полная
1	Возможность поддержания вертикального положения в течение дня. Легкие ограничения объема движений позвоночника
2	Поддержание вертикального положения в течение дня с периодическим отдыхом (в горизонтальном положении), ограничен объем движений позвоночника
3	Значительное ограничение физической активности в вертикальном положении и объема движений позвоночника
4	Невозможность поддержания вертикального положения без помощи посторонних людей и вспомогательных предметов (трости, костылей)
5	Вынужденное положение (лежа, сидя)
Баллы	Зависимость от анальгетиков (0–5 баллов)
0	Не принимает обезболивающих средств
1	Периодический прием ненаркотических анальгетиков
2	Регулярный прием ненаркотических анальгетиков
3	Регулярный прием ненаркотических, с периодическим приемом наркотических анальгетиков
4	Регулярный прием пероральных наркотических анальгетиков
5	Регулярный прием парентеральных наркотических анальгетиков

В зависимости от уровня операции пункционную вертебропластику проводили определенным доступом: транспедункулярный доступ (грудной и поясничный отделы позвоночника), интеркостовертбральный доступ (грудной отдел позвоночника), заднебоковой доступ (поясничный отдел позвоночника).

Транспедункулярный доступ относился к основным доступам при выполнении вмешательств на грудном и поясничном отделах позвоночника. Во время проведения иглы выполняли постоянный флюороскопический контроль. Как правило, иглы без сопротивления погружались в разреженную костную ткань остеопоротических позвонков. Введенная игла располагалась своим концом в передней трети тела компримированного позвонка и несколько латерально от средней линии. Интеркостовертбральный

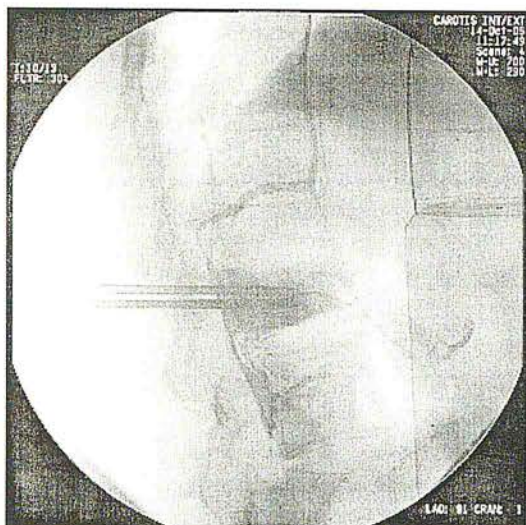


Рис. 4. Веноспондилография. Картина равномерного распределения контрастного препарата в паравerteбральном венозном сплетении

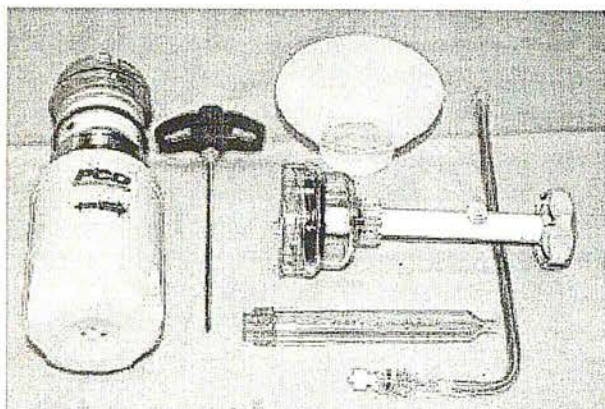


Рис. 5. Набор для вертебропластики «PCD»

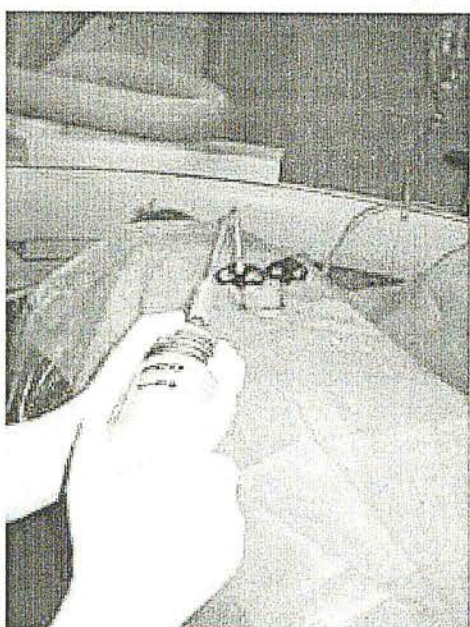


Рис. 6. Этап введения костного цемента с использованием аппарата «PCD»

доступ применяли в грудном отделе позвоночника при небольших размерах корня дужки. Заднебоковой доступ обычно был вспомогательным и использовался при необходимости.

Всем пациентам выполняли веноспондилографию, которая позволяла определить близость крупных венозных коллекторов к дистальному концу иглы и предотвратить прямое введение костного цемента в крупную вену тела позвонка (рис. 4).

Данные веноспондилографии позволяли выбрать оптимальную тактику введения композита (скорость, вязкость), что способствовало уменьшению интраоперационных осложнений.

Для проведения пункционной вертебропластики использовали цементы высокой вязкости (Simplex P, Spineplex). Для повышения контрастности цемента Simplex P в его состав вводился стерильный порошок сульфата бария или танталовая пудра в соотношении на 9 частей полимера – 1 часть рентгенконтрастной добавки. В состав цемента Spineplex во время фабричной заготовки введен сульфат бария, соотношение частей полимера и сульфата бария составляет 7:3. Цементы низкой вязкости хорошо распространялись в губчатой ткани тела позвонка.

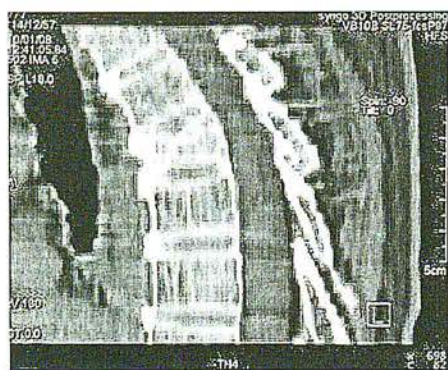
Для введения костного цемента применяли систему «PCD» фирмы «Stryker» (США) (рис. 5, 6).

После завершения манипуляций систему разгерметизировали для снижения давления в ней, иглы удаляли. Пациента через 2 ч переводили в вертикальное положение. Результаты оперативного вмешательства оценивали при контрольной компьютерной томографии и (или) рентгенографии. Выписка происходила на следующие сутки.

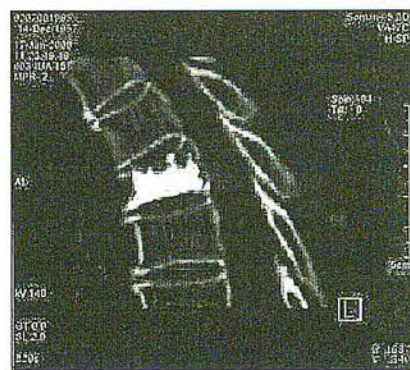
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У 52 (88%) пациентов диагноз остеопороз диагностирован впервые. В клинической картине у всех пациентов превалировал локальный болевой синдром в области перелома. Причиной компрессионного перелома в 41 (69%) случае явилась травма низкой энергии (гипернаклоны, неловкие движения, падение с высоты собственного роста). У 4 (7%) больных в анамнезе имели место кататравма или ДТП, в 14 (24%) случаях боли возникали на фоне полного благополучия.

У 52 (89%) пациентов I группы, 56 (93%) пациентов II группы боль носила острый характер, усиливалась при минимальных движениях. У остальных больных отмечена умеренная или слабая хроническая боль в спине. «Невыносимый» характер боли (5 баллов по «Оригинальной шкале») имел место в I группе у 14 (24%) больных, во II – у 35 (58%). Интенсивная периодическая боль (4 балла) превалировала в I группе, выявлена у 24 (41%) постра-



А

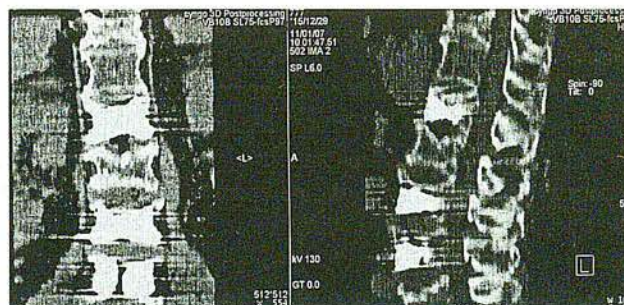


Б

Рис. 7. Компьютерная томография грудного отдела позвоночника, боковая проекция: А – компрессионный перелом тела Th IV позвонка II степени; Б – состояние после вертебропластики тела Th IV позвонка



А



Б

Рис. 8. Компьютерная томография поясничного отдела позвоночника, боковая проекция: А – компрессионные переломы тел L1, L3, L4 позвонков II степени; Б – состояние после вертебропластики тел L1, L3, L4 позвонков

давших. Рефлекторный мышечно-тонический синдром, ограничение объема движений в позвоночнике, общей двигательной активности отмечены в 100% случаях в обеих группах. Значительное ограничение физической активности и невозможность поддержания вертикального положения без помощи посторонних людей и/или вспомогательных предметов (3–4 балла по «Оригинальной шкале») имели место у 29 (49%) пациентов в I группе, у 31 (52%) – во II. 52 (88%) больных I группы, 60 (100%) пострадавших II группы нуждались в постоянном или периодическом приеме ненаркотических анальгетиков (1–2 балла); 1 (2%) пациент I группы принимал наркотические анальгетики.

Цифровая рентгенография позвоночника в прямой и боковой проекциях выполнена 22 (37%) пациентам. 37 (63%) больных прибыли на лечение с данными проведенного обследования. Методика позволила верифицировать диагноз компрессионного перелома тела позвонка в 107 (96%) случаях. Сложности в диагностике возникали в пограничных состояниях при компрессионных переломах I степени. По данным спондилографии невозможно было отличить компрессионный перелом тела позвонка от остеопоретической деформации.

При помощи данных компьютерной томографии выявили, что чаще всего переломы тел позвонков локализовались в поясничном отделе позвоночника – у 27 (46%) пациентов, у 21 (36%) больного – в грудном, у 11 (18%) – одновременно в поясничном и грудном отделах. Компрессия одного тела позвонка выявлена в 29 (49%) случаях, двухуровневое нарушение целостности позвонков – у 15 (26%), трехуровневое – у 8 (14%), четырехуровневое – у 7 (12%) человек. Из 111 компрессионных переломов чаще всего компримировались тела L1, Th XII позвонков. Деформация тела L1 позвонка выявлена в 19 (17%) случаях, тела Th XII позвонка – в 13 (12%).

Эффективность пункционной вертебропластики оценивалась нами по клиническим данным и контрольной КТ позвоночника, которая выполнялась на 2-е сут после операции (рис. 7, 8).

Распределив пациентов по степени функциональных нарушений на категории, в основной и контрольной группах мы получили следующие результаты (рис. 9). Исходно превалировали пациенты с умеренными расстройствами: 34 (58%) – I группа, 26 (44%) – II группа. Через 7 сут от начала лечения 57 (97%) пациентов в I группе имели легкие расстройства, у 25 (42%) пациентов во II группе отмечены выраженные расстройства, у 24 (40%) – умеренные ($p < 0,05$).



Рис. 9. Степень функциональных нарушений у пациентов разных категорий (по «Оригинальной шкале») в I и II группах

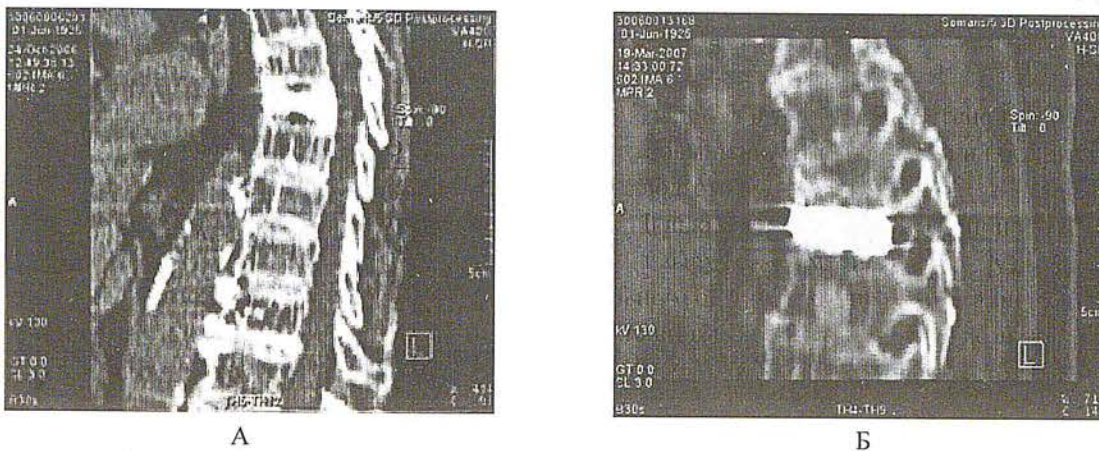


Рис. 10. Компьютерная томография грудного отдела позвоночника, боковая проекция, состояние после вертебропластики тела Th VII позвонка: А – от 24.10.2006 г.; Б – от 19.03.2007 г., компрессионный перелом тела вышележащего ThVI позвонка

Спустя 6 мес все пациенты I группы имели легкие расстройства, у 49 (82%) больных во II группе отмечены умеренные расстройства ($p < 0,05$).

Средний срок лечения пациентов при выполнении оперативного лечения составил 2,5 (от 1 до 6) дня.

Анализ данных контрольной спондилографии и спиральной компьютерной томографии показал, что через полгода в I группе у 1 (1,7%) пациента появился локальный болевой синдром на уровне выполненной операции (вертебропластика тела ThVII позвонка). По данным контрольной КТ выявлен патологический компрессионный перелом тела ThVI позвонка, выполнена повторная пункционная пластика (рис. 10).

В контрольной группе у 2 (3,3%) пациентов через 6 мес после начала консервативной терапии отмечено прогрессирование выраженности степени остеопороза, усиление болевого синдрома, по данным контрольной спондилографии, подтверждено увеличение деформации ранее компремированных тел позвонков.

ВЫВОДЫ

1. Алгоритм обследования больного с подозрением на несложный компрессионный перелом тела позвонка на фоне системного остеопороза должен включать общий комплекс клиничко-лабораторных и лучевых методов диагностики, в том числе количественную и качественную КТ, КТ-денситометрию, МРТ по показаниям, радиоизотопную скинтиграфию скелета.
2. Показанием к выполнению перкутанной вертебропластики являются несложные непроникающие переломы тел позвонков вследствие первичного или вторичного остеопороза.
3. Перкутанная вертебропластика является более эффективным методом лечения пациентов с компрессионными деформациями тел позвонков по сравнению с консервативной терапией, что доказано регрессом болевого и мышечно-тонического синдрома у 93% больных в течение полугода после операции. Метод способствует восстановлению биомеханической прочности тела позвонка.

ка, позволяет выполнять вмешательство одновременно на нескольких уровнях в условиях локальной анестезии, что сокращает время пребывания больного в стационаре.

Литература

1. Алибеккадиев А. Сенильные переломы позвоночника: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1971. 17 с.
2. Белосельский Н. Н. Остеопороз позвоночного столба (комплексная лучевая диагностика): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Ярославль, 2000. 26 с.
3. Беневоленская Л. И. Распространенность остеопороза позвоночника в популяционной выборке города Москвы // Первый Рос. симпоз. по остеопорозу: программа тез. лекций и докладов. М., 1995. С. 11–14.
4. Беневоленская Л. И. Руководство по остеопорозу. М.: Бином, 2003. 524 с.
5. Дулаев А. К., Орлов В. П., Дадыкин А. В. Лечение больных с патологическими переломами позвонков на фоне остеопороза с использованием современных хирургических технологий // VII съезд травматологов-ортопедов России: программа тез. лекций и докладов. Новосибирск, 2002. С. 74.
6. Евстигнеева Л. П. Эпидемиологическое исследование остеопоретических деформаций позвонков у жителей г. Екатеринбурга старших возрастных групп: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ярославль, 2002. 22 с.
7. Евстигнеева Л. П., Леснык О. М., Пивень А. И. Эпидемиология остеопоретических переломов позвоночника по данным рентгеноморфометрического анализа среди популяционной выборки жителей Екатеринбурга 50 лет и старше // Остеопороз и остеопатии. 2001. № 2. С. 2–6.
8. Еришова О. Б. Клинико-эпидемиологическая характеристика остеопороза: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Ярославль, 1998. 24 с.
9. Каплан А. В., Алибеккадиев А. С. Некоторые вопросы дегенеративно-дистрофических и инволютивных изменений в структуре тел позвонков у людей пожилого и старческого возраста // Патология позвоночника. Вильнюс, 1971. С. 172–175.
10. Лепарский Е. А. Международный симпозиум «Социальные и экономические аспекты остеопороза и заболеваний костей». Льеж, Бельгия, 1997 год // Остеопороз и остеопатии. 1998. № 1. С. 46–47.
11. Михайлов Е. Е., Беневоленская Л. И., Мылов Н. М. Распространенность переломов позвоночника в популяционной выборке лиц 50 лет и старше // Вестн. травматол. и ортопедии им. Н. Н. Приорова. 1997. № 3. С. 20–26.
12. Мылов Н. М. Рентгенологическая диагностика остеопороза // Остеопороз и остеопатии. 1998. № 3. С. 7–8.
13. Полищук Н. Е., Корж Н. А., Фищенко В. Я. Повреждения позвоночника и спинного мозга. Киев: Книга плюс, 2001. 388 с.
14. Риггз Б. Л., Мелтон III Л. Д. Остеопороз: этиология, диагностика, лечение: пер. с англ. СПб.: Бином, 2000. 558 с.
15. Рожинская Л. Я. Основные принципы лечения и профилактики остеопороза // Диагностика, профилактика и лечение остеопороза в ортопедии и травматологии: программа, тез. лекций и докладов. СПб., 1999. С. 63–68.
16. Слияков Л. Ю., Кавалерский Г. М., Бобров Д. С. и др. Комплексное лечение неосложненных повреждений грудного и поясничного отделов позвоночника при первичном остеопорозе // Травматология. 2007. № 2. С. 298–306.
17. Субботин В. В. К вопросу о переломах позвоночника у людей пожилого и старческого возраста // Патология позвоночника. Новосибирск, 1972. С. 92–98.
18. Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз / Пер. с нем. А. Ю. Болотиной, Н. М. Мылова. М.: Медицина, 1995. 299 с.
19. Barr J. D., Barr M. S., Lemley T. J., McCann R. M. Percutaneous vertebroplasty for pain relief and spinal stabilization // Spine. 2000. Vol. 25 (8). P. 923–928.
20. Charles N., Cornell M. D. Internal Fracture Fixation in Patients With Osteoporosis // Am. Acad. Orthop. Surg. 2003. № 2. P. 109–119.
21. Galibert P., Deramond H., Rosat P., Le Gars D. Note preliminaire sur le traitement des angiomes vertebraux par vertebroplastie acrylique percutanee // Neurochirurgie. 1987. Vol. 33. P. 166–168.
22. Lapras C., Mottolese C. et al. Percutaneous injection of methyl-metacrylate in osteoporosis and severe vertebral osteolysis (Galibert's technic) // Ann. Chir. 1989. Vol. 43 (5). P. 371–376.
23. Lindsay R., Burge R. T., Strauss D. M. One year outcomes and costs following a vertebral fracture // Osteoporos Int. 2005. Vol. 16 (1). P. 78–85.
24. Maksymowych W. P. Managing acute osteoporotic vertebral fractures with calcitonin // Can. Fam. Physician. 1998. Vol. 44. P. 2160–2166.
25. Melton L. J. 3rd. Epidemiology of spinal osteoporosis // Spine. 1997. № 15. Vol. 22 (24). P. 2–11.
26. O'Neill T. W., Felsenberg D., Varlow J. et al. The prevalence of vertebral deformity in European men and women: The European Vertebral Osteoporosis Study // J. Bone Miner. Res. 1996. Vol. 11. P. 1010–1017.
27. Ross P. D., Davis J. W., Epstein R. S., Wasnich R. D. Pre-existing fractures and bone mass predict vertebral fracture incidence in women // Ann Intern. Med. 1991. № 1. Vol. 114 (11). P. 919–923.

Представлена академиком РАМН Б. В. Гайдаром

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

КЛИМОВИЧ В. Б., САМОЙЛОВИЧ М. П., ГРЯЗЕВА И. В., КРУТЕЦКАЯ И. Ю.

ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»,
Санкт-Петербург

Климович В. Б., Самойлович М. П., Грязева И. В., Крутецкая И. Ю. Моноклональные антитела против иммуноглобулинов в диагностике заболеваний человека // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 84–95. ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи», Санкт-Петербург, 197758.

Представлен обзор исследований лаборатории гибридомной технологии ЦНИРРИ (ныне РНЦ РХТ Росмедтехнологий), приведших к созданию уникальной панели моноклональных антител против легких и тяжелых цепей, J-цепи и секреторного компонента иммуноглобулинов человека. Панель включает реагенты 21 специфичности и позволяет, используя методы иммуноферментного анализа, иммуноблоттинга и иммуногистохимии, выявлять и определять концентрации всех клинически значимых молекулярных форм иммуноглобулинов и их фрагментов. Приведены данные о применении полученных реагентов в фундаментальных исследованиях и в диагностике инфекционных, аутоиммунных, аллергических заболеваний, доброкачественных и злокачественных гаммапатий.

Ключевые слова: иммуноглобулины человека, моноклональные антитела, гибридомы, иммуноанализ, иммунодиагностика.

Klimovich V. B., Samoilovich M. P., Griazeva I. V., Krutetskaja I. Y. Monoclonal antibodies against immunoglobulins in diagnostics of human diseases // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 3. P. 84–95. Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health and Social Development. St. Petersburg, 197758.

The investigations performed by Hybridoma Technology Laboratory of CNIRRI (present-RSC RCT) that resulted in creation of a unique panel of monoclonal antibodies against light and heavy chains, J-chain and secretory component of human immunoglobulins are reviewed. This panel includes the reagents of 21 specificities and permits using immunoenzyme analysis, immunoblotting or immunohistochemistry to reveal and estimate the quantity of all clinically significant molecular forms of immunoglobulins and their fragments. The data concerning the application of these reagents in fundamental studies and for diagnostics of infectious, autoimmune, allergic diseases, benign and malignant gammopathies are presented.

Key words: human immunoglobulins, monoclonal antibodies, hybridomas, immunoanalysis, immunodiagnosics.

К 90-летию Центрального научно-исследовательского рентгенорадиологического института

Согласно определению ВОЗ иммуноглобулины (Ig) представляют собой семейство родственных белков, обладающих свойствами антител [23]. Субъединицы, из которых построены все без исключения молекулы Ig, являются гетеродимерами, состоящими из легкой и тяжелой полипептидных цепей. Две идентичные субъединицы образуют молекулы мономерных Ig (сывороточного IgA, IgD, IgE и IgG). Полимерный IgA построен из 4 и более, а IgM – из 10 субъединиц. Они содержат также дополнительно J-цепь, встроенную между C-концевыми участками двух тяжелых цепей. Соединение всех полипептидных цепей обеспечивают дисульфидные связи [38].

В соответствии с видом легких цепей все Ig разделяют на два типа: каппа и лямбда (κ , λ). В пределах каждого типа выделяют пять изотипов или классов (IgA, IgG, IgD, IgE, IgM). Изотипическая принадлежность определяется тяжелыми цепями. Для обозначения их используют греческие эквива-

ленты латинских символов (α -, γ -, δ -, ϵ -, μ -). Среди IgA и IgG различают субизотипы или подклассы: IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 и соответственно варианты тяжелых цепей $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ и $\gamma 4$. Секреторный компонент, который присоединяется к полимерным Ig в процессе переноса их через эпителий на поверхность слизистых оболочек, определяет принадлежность IgA1, IgA2 и IgM к категории секреторных антител [52]. Таким образом, существует 32 основных варианта молекул Ig (табл. 1). Дополнительный вклад в разнообразие молекулярных форм Ig вносят аллельные формы генов, кодирующих $\alpha 2$ -, $\gamma 1$ -, $\gamma 2$ - и $\gamma 3$ -цепи [42].

Образующие Ig полипептидные цепи обладают высокой степенью подобия первичной и пространственной структуры. По своим физико-химическим характеристикам молекулы Ig также чрезвычайно сходны. Различия, определяющие тип, изотип и субизотип Ig, носят характер антигенных. Они локали-

Основные варианты структуры молекул иммуноглобулинов человека

Типы	Мономерные Ig		Полимерные (p) и секреторные (s) Ig
	Изотипы	Субизотипы	
Каппа (Ig-κ)	IgA-κ (2α+2κ) IgD-κ (2δ+2κ) IgE-κ (2ε+2κ) IgG-κ (2γ+2κ)	IgA1-κ (2α1+2κ) IgA2-κ (2α2+2κ) IgG1-κ (2γ1+2κ) IgG2-κ (2γ2+2κ) IgG3-κ (2γ3+2κ) IgG4-κ (2γ4+2κ)	pIgA1-κ [(2α1+2κ)*2] + J pIgA2-κ [(2α2+2κ)*2] + J sIgA1-κ [(2α1+2κ)*2] + J + SC sIgA2-κ [(2α2+2κ)*2] + J + SC IgM-κ (2μ+2κ)*5 + J sIgM-κ [(2μ+2κ)*5] + J + SC
	IgM-κ (2μ+2κ)		
Лямбда (Ig-λ)	IgA-λ (2α+2λ) IgD-λ (2δ+2λ) IgE-λ (2ε+2λ) IgG-λ (2γ+2λ)	IgA1-λ (2α1+2λ) IgA2-λ (2α2+2λ) IgG1-λ (2γ1+2λ) IgG2-λ (2γ2+2λ) IgG3-λ (2γ3+2λ) IgG4-λ (2γ4+2λ)	pIgA1-λ [(2α1+2λ)*2] + J pIgA2-λ [(2α2+2λ)*2] + J sIgA1-λ [(2α1+2λ)*2] + J + SC sIgA2-λ [(2α2+2λ)*2] + J + SC IgM-λ [(2μ+2λ)*5] + J sIgM-λ [(2μ+2λ)*5] + J + SC
	IgM-λ (2μ+2λ)		

Примечание. J – J-цепь, SC – секреторный компонент.

зованы на уровне характерных для данной молекулы участков поверхностей, называемых антигенными детерминантами или эпитопами. В связи с этим достоверная идентификация любого Ig возможна только с помощью иммунохимических реагентов – антител, направленных к специфическим эпитомам тяжелых или легких цепей. Наиболее важными для большинства методов иммуноанализа являются детерминанты трех категорий: типоспецифические эпитопы легких цепей, изотипические и субизотипические детерминанты тяжелых цепей Ig [38].

Полипептидные цепи, образующие Ig, могут существовать как самостоятельные молекулы. В антигенном отношении свободные цепи отличаются от находящихся в составе Ig тем, что антигенные детерминанты, которые маскированы в структуре целостных молекул Ig, на свободных цепях становятся доступными для распознавания антителами. Антитела против маскируемых детерминант позволяют выявлять свободные цепи Ig в присутствии значительного избытка целостных молекул Ig [44].

Для выявления Ig до настоящего времени применяют антисыворотки животных, иммунизированных Ig человека. Эти реагенты зачастую обладают низкой специфичностью и с трудом поддаются стандартизации. Существующие приемы позволяют получать антисыворотки лишь против легких цепей и трех основных классов Ig человека (IgA, IgG, IgM). Поскольку на молекулах Ig имеются эпитопы, общие для всех или некоторых классов или подклассов, антисыворотки проявляют широкую перекрестную

реактивность, что служит причиной недостаточной избирательности иммунохимических тестов.

В мировой практике в течение последних двух десятилетий обозначилась тенденция к замене иммунных сывороток реагентами, получаемыми при культивировании гибридом, клеточных линий-продуцентов антител, направленных к любому антигену [43]. Такие линии создают путем гибридизации лимфоцитов иммунизированных животных с клетками миелом и последующего отбора и размножения потомства единичных клеток (клонов). Поэтому синтезируемые гибридомами антитела называют моноклональными (МКАТ). Гибридомы наследуют от нормальной родительской клетки синтез антител определенной специфичности, а от злокачественной – способность к неограниченному размножению. Каждый гибридомный штамм представляет собой популяцию генетически идентичных клеток, синтезирующих антитела, однородные по структуре и антиген-связывающей активности [41].

В сравнении с антисыворотками МКАТ обладают рядом качественных отличий.

1. Каждое МКАТ распознает только один из множества эпитопов данного антигена, поэтому применение МКАТ в диагностических тестах дает выигрыш в специфичности, воспроизводимости и чувствительности.

2. Если два МКАТ направлены к топографически удаленным эпитомам, они могут связываться с антигеном независимо друг от друга, последовательно или одновременно. Распознавание антигена по присутствию двух характерных для него эпитопов

обеспечивает чрезвычайно высокую специфичность анализа.

3. МКАТ не обладают универсальной применимостью в иммунохимических тестах. Так, не все МКАТ сохраняют антиген-связывающую активность при присоединении метки или адсорбции на твердой фазе. Из этого следует необходимость отбора МКАТ, пригодных для проведения определенных видов анализа.

МКАТ, будучи по своей природе моноспецифичными реагентами, как нельзя более подходят для решения проблемы создания высококачественных реагентов против Ig. Способность МКАТ распознавать отдельные эпитопы полипептидных цепей и выявлять различия, обусловленные заменами единичных аминокислот, делает их инструментом чрезвычайно высокой разрешающей силы. Поскольку гибридомные штаммы продуцируют практически неограниченные количества однородных молекул антител, одновременно с проблемой специфичности получают свое разрешение проблемы стандартизации качества и масштабов производства реагентов для детекции Ig.

В Центральном научно-исследовательском рентгено радиологическом институте (ныне ФГУ РНЦ РХТ Росмедтехнологий) в 1982 г. была организована лаборатория гибридомной технологии. Одна из основных целей работы коллектива состояла в создании МКАТ, которые распознают все типы, классы (изотипы) и подклассы (субизотипы) Ig человека, выявляют секреторные формы IgA и IgM и обладают свойствами, позволяющими конструировать на их основе системы детекции и определения концентраций этих белков. В настоящей публикации суммированы основные результаты работ указанного направления.

ТЕХНОЛОГИЯ СОЗДАНИЯ И ОТБОРА ГИБРИДОМ

В целом использованные приемы получения гибридом соответствовали описанным в литературе [8, 21]. Следует отметить 3 существенных отличия от общепринятых методов работы.

Коллекция образцов Ig и их компонентов. Для иммунизации мышей, первичного скрининга гибридом, установления специфичности полученных МКАТ и изучения их свойств была собрана коллекция образцов сыворотки и белков мочи от пациентов с множественной миеломой, болезнью тяжелых цепей и макроглобулинемией Вальденстрема. В настоящее время коллекция насчитывает более 200 образцов, среди которых имеются белки Бенс-Джонса, гомогенные Ig всех типов, изотипов и субизотипов, изолированные тяжелые цепи. Препараты очищенных легких цепей, IgA, IgM, IgG четырех подклассов,

а также компоненты полимерных и секреторных Ig (J-цепь и свободный секреторный компонент) были выделены и очищены в лаборатории с помощью сочетания методов гель-фильтрации, ионообменной и аффинной хроматографии.

Мыши-доноры иммунных лимфоцитов. Сложившаяся практика создания гибридом основана на использовании мышей линии BALB/c в качестве доноров иммунных лимфоцитов и носителей пассируемых штаммов-продуцентов МКАТ. Клетки миеломных штаммов, используемых для создания гибридом, происходят от животных той же линии и несут идентичные антигены гистосовместимости (H2d). Это обеспечивает генетическую совместимость животных-реципиентов и клеток гибридом при пассировании их в виде опухолевых штаммов. В то же время известно, что репертуар антител, вырабатываемых животными любого генотипа, ограничен генетически [39, 45]. Поэтому спектр эпитопов, распознаваемых с помощью МКАТ, происходящих от клеток линии BALB/c, неизбежно ограничен и не исчерпывает разнообразия антигенных детерминант, присущих любому антигену. Поскольку стандартная гибридомная техника приводит к получению МКАТ против иммунодоминантных эпитопов, представлялось целесообразным выбрать инбредных мышей, которые, отличаясь от BALB/c репертуаром вырабатываемых антител, могли бы служить донорами иммунных лимфоцитов, а их потомки от скрещивания с мышами BALB/c – носителями гибридомных асцитов. В этом случае новые МКАТ дополняли бы спектр эпитопов Ig человека, распознаваемых реагентами, созданными в других лабораториях. Анализ данных литературы и собственных наблюдений позволил остановить выбор на животных линии SJL/J, которые и были использованы при выполнении всех основных задач настоящего исследования [3, 17].

Штамм миеломных клеток. На подготовительном этапе работы был получен культивируемый штамм миеломных клеток, независимый от ростовых факторов эмбриональной сыворотки. Это устраняло трудности, связанные с нестандартностью и малой доступностью фетальной сыворотки, и открывало путь к получению стабильных гибридомных линий, более приспособленных к эксплуатации в качестве продуцентов МКАТ. Новый штамм был получен в результате длительного культивирования и селекции клеток исходной линии (X63Ag8. 653) попеременно в массовой культуре или в условиях клонирования на фидерном слое на среде с сывороткой крупного рогатого скота [14]. Испытания показали, что полученный штамм позволяет получать гибридомы, которые соответствуют общепринятым критериям стабильности и продуктивности [28].

Критерии отбора МкАт были определены с учетом того, что основными областями применения полученных реагентов являются: 1) определение концентраций Ig в сыворотке крови и других биологических жидкостях; 2) выявление специфических антител, направленных против инфекционных антигенов, аллергенов и аутоантигенов; 3) выявление Ig, синтезируемых при гаммапатиях.

Для решения перечисленных задач используют один из трех методов иммуноанализа: иммунометрический (двухдетерминантный), иммуносорбентный и прямой метод детекции Ig. Соответственно были определены критерии отбора МкАт.

1. Для иммунодиагностических тест-систем важно, чтобы используемые реагенты распознавали генетически наименее изменчивые, консервативные антигенные участки, которые являются маркерами типов, классов или подклассов Ig и представлены одинаково на молекулах антител разных индивидов. Поскольку молекулам Ig свойственна конформационная изменчивость, которая определяется отсутствием жесткости во взаимной ориентации доменов полипептидных цепей, необходимым этапом селекции было выявление МкАт, распознающих конформационно-устойчивые участки, и отбраковка МКАТ, связывающих переменные детерминанты Ig.

2. Конструирование двухдетерминантных (иммунометрических) систем анализа предполагает использование двух МКАТ, одно из которых, направленное к одному эпитопу антигена, иммобилизовано на твердой фазе, а второе, распознающее другой эпитоп, топографически удаленный от первого, несет ферментную, изотопную или иную метку. Поиск реагентов, пригодных для создания указанных систем, включал два этапа:

- селекцию МкАт, сохраняющих специфичность и антиген-связывающую активность при иммобилизации и/или присоединении метки;
- подбор комплементарных сочетаний МкАт, направленных к двум топографически удаленным антигенным детерминантам молекул Ig определенного типа, изотипа и субизотипа.

3. Образование комплексов антиген-антитело сопровождается агрегацией молекул Ig и изменениями их конформации. Поэтому представлялось необходимым отобрать МкАт, направленные к детерминантам, экспрессия которых сохраняется при включении Ig в состав иммунного комплекса.

ПАНЕЛЬ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ПРОТИВ Ig ЧЕЛОВЕКА

Из нескольких тысяч исходных гибридомных культур в результате первичного отбора и клонирования было получено 95 клонов-продуцентов МКАТ против полипептидных цепей, входящих в состав мо-

лекул Ig человека (табл. 2). В большинстве случаев удалось получить семейства МКАТ, распознающих несколько эпитопов каждого из перечисленных компонентов. Эта совокупность послужила исходным материалом для дальнейшего отбора реагентов с требуемым сочетанием свойств.

Таблица 2

Семейства гибридом-продуцентов МКАТ против полипептидных цепей Ig человека

Специфичность МКАТ	Число клонов-продуцентов
κ-цепь	10
λ-цепь	12
α-цепь	19
γ-цепь	10
γ1-цепь	1
γ2-цепь	5
γ3-цепь	2
γ4-цепь	4
ε-цепь	9
μ-цепь	4
Ι-цепь	9
Секреторный компонент	10

При изучении семейства МКАТ против легких цепей κ- и λ-типа было установлено, что в пределах каждого из них имеются две группы МКАТ. Первую составляют реагенты, которые взаимодействуют одинаково как со свободными цепями (белками Бенс-Джонса), так и с целостными молекулами Ig. МКАТ второй группы реагируют только со свободными легкими цепями. Анализ эпитопной специфичности полученных реагентов позволил заключить, что МКАТ, связывающие Ig и свободные цепи, распознают эпитопы, экспрессируемые постоянно, тогда как МКАТ, связывающие только свободные цепи, направлены к эпитопам, маскированным в структуре целостных молекул Ig. Было установлено также, что эпитопы первого и второго рода топографически удалены друг от друга [48]. Далее, среди МКАТ против постоянно экспрессированных эпитопов были выбраны те, которые, взаимодействуя одинаково эффективно со всеми образцами белков Бенс-Джонса, наиболее устойчивы к процедуре конъюгации с пероксидазой. Наряду с этим были отобраны МКАТ против маскируемых детерминант, которые при иммобилизации на твердой фазе обеспечивают специфичное связывание свободных легких цепей [11].

При отборе МКАТ против IgG особое внимание было обращено на равномерность связывания молекул, относящихся к разным подклассам IgG. Среди десяти первично выявленных реагентов против изотип-специфичных детерминант IgG только пять связывали молекулы IgG всех четырех подклассов с оди-

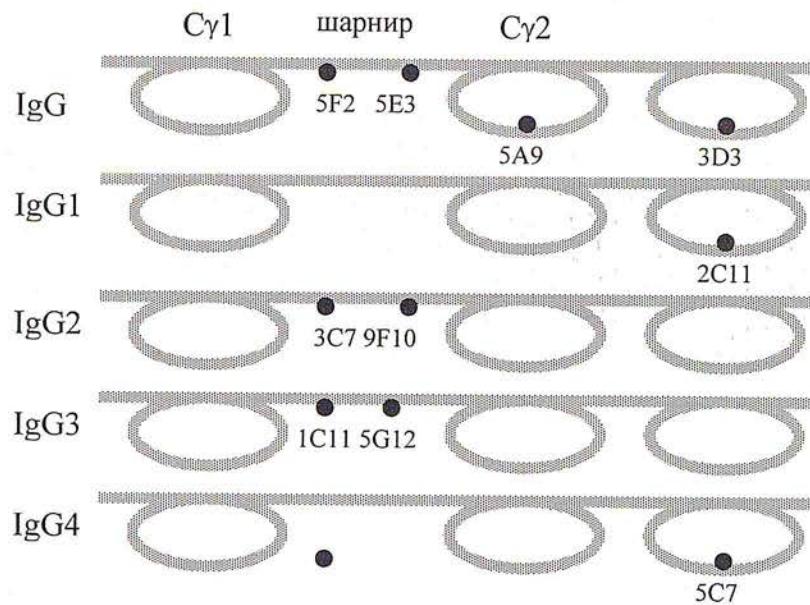


Рис. 1. Схема расположения класс- и подкласс-специфических эпитопов IgG.

Черными кружками обозначены эпитопы и их локализация в пределах константных доменов Cγ1, Cγ2 и Cγ3

наковой или близкой эффективностью. Эти МКАТ не реагировали с моно- или поликлональными легкими цепями, IgA, IgE, IgM, и в то же время связывали относительно равномерно иммобилизованные на твердой фазе IgG всех четырех подклассов.

Изучение связывания МКАТ с протеолитическими фрагментами IgG показало, что два распознаваемых эпитопа локализованы в пределах Fc-области, тогда как два других находятся в районе разрушающегося при протеолизе шарнирного участка (рис. 1).

Реагенты против изотип-специфических детерминант IgG были использованы и для картирования эпитопов, распознаваемых МКАТ против подклассов IgG (рис. 1). Полученные данные позволили заключить, что эпитоп G1-2C11 расположен в Fc-области вблизи детерминанты, связывающей МКАТ G-3D3, МКАТ против IgG2 и IgG3 реагируют с эпитопами, близкими к шарниру, а маркер IgG4 находится в Fc-области в удалении от эпитопа G-3D3 [16, 26, 27].

Исследование эпитопной специфичности МКАТ против IgE показало, что они распознают четыре антигенных участка, из которых три локализованы в Cε2-домене, а один – в Cε3. Применение рекомбинантных полипептидов, воспроизводящих фрагменты первичной структуры ε-цепи, позволило построить схему расположения эпитопов, связывающих исследуемые МКАТ (рис. 2). Эпитоп, связывающий МКАТ 4F4, разрушался при нагревании IgE до 56°C. Можно предположить, что он входит в состав термолabileного лигандного участка, обеспечивающего связывание IgE рецептором FcεRI на мембранах тучных клеток и базофилов. Топографическая удаленность эпитопа 4F4 от антиген-распознающего центра молекулы и от остальных эпитопов, распознаваемых

МКАТ, позволила использовать МКАТ 4F4 в качестве меченного пероксидазой [9] или биотином [12] реагента, выявляющего IgE в составе комплекса с аллергеном или с другим МКАТ, адсорбированным на твердой фазе. Таким образом, полученные МКАТ против IgE обеспечили реализацию двух основных методов алергодиагностики: иммуносорбентного выявления аллерген-специфичных антител и иммунометрического метода определения концентрации IgE [46].

Среди МКАТ против тяжелых альфа- и мю-цепей были отобраны реагенты, распознающие линейные, топографически удаленные детерминанты константных доменов. В сочетании с МКАТ против секреторного компонента и J-цепи эти реагенты позволяют изучать мономерные, полимерные и секреторные формы IgA и IgM, присутствующие в норме и при патологии в циркулирующей крови и в секретах слизистых оболочек и экзокринных желез. Эти МКАТ дают возможность, наряду с методами твердофазного ИФА, выявлять целостные Ig или их фрагменты после электрофоретического разделения и переноса

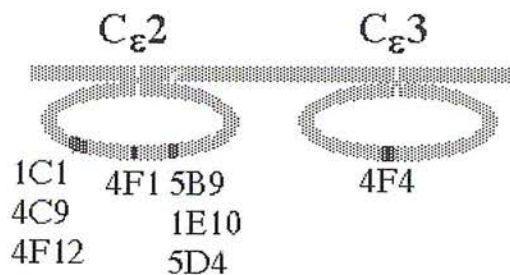


Рис. 2. Схема расположения класс-специфических эпитопов IgE.

Черные участки – эпитопы и их локализация в пределах константных доменов Cγ1, Cγ2, Cγ3 и Cγ4

на нитроцеллюлозу (иммуноблотинг), а также на срезах тканей, заключенных в парафин, методом иммуногистохимии [15, 19].

Следует остановиться на МКАТ против J-цепи, поскольку впервые в мировой практике удалось создать семейство гибридом, продукты которых распознают несколько эпитопов J-цепи и существенно отличаются друг от друга по серологической активности. МКАТ выявляют на J-цепи человека девять линейных антигенных детерминант, четыре из которых являются видоспецифичными для человека, а пять других связывают гомологичные белки ряда млекопитающих, в том числе мышей и крыс. Несколько МКАТ распознают эпитопы J-цепи, находящейся в составе нативного секреторного IgA человека. Наличие J-цепи является отличительным признаком полимерных Ig, а выявление J-цепи в их составе – подходом к иммунохимической детекции молекул полимерных IgA и IgM в присутствии мономерных форм [25].

Экспертиза МКАТ, проведенная в нескольких зарубежных лабораториях, подтвердила корректность определения специфичности МКАТ. Было также установлено, что ряд МКАТ обладает уникальной

эпитопной направленностью и этим отличается от использованных при экспертизе референс-препаратов.

Общим итогом исследований, описанных выше, стало создание панели МКАТ, охарактеризованных по специфичности и серологической активности. Как следует из приведенных данных, в панель включены реагенты, позволяющие выявлять все клинически значимые разновидности молекул Ig и их фрагменты (табл. 3).

В целом изучение эпитопной специфичности МКАТ всех полученных семейств позволило сгруппировать реагенты, распознающие идентичные или пространственно сближенные детерминанты молекул Ig, а также выявить МКАТ, направленные против топографически удаленных эпитопов, что необходимо для конструирования иммунометрических (двухдетерминантных) систем иммуноанализа [37].

При изучении свойств МКАТ всех перечисленных выше семейств особое внимание было уделено подбору комплементарных сочетаний иммобилизованных и меченых реагентов, позволяющих с помощью иммунометрического теста определять в сыворотке крови и в других биологических жидкостях

Таблица 3

Специфичность и серологическая активность МКАТ против Ig человека, секреторного компонента и J-цепи

№	Специфичность	Код МКАТ	Локализация эпитопа	Серологическая активность			
				Адсорбция на твердой фазе	Меченый реагент	Иммуноблот	Иммуногистохимия
1	IgA	3B7	Fc-область IgA1 и IgA2	+	-	+	+
2	IgA	1H9	Fc-область IgA1 IgA2	-	+	-	+
3	IgA	10G11	Fc-область IgA1 и IgA2	+	+	+	+
4	IgA1	2B5	Fc-область IgA1	+	+	-	+
5	IgM	2B9	Fc-область IgM	+	+	+	ни*
6	IgG	5A9	C2-домен IgG	-	+	ни	ни
7	IgG	5E3	Область шарнира IgG	+	-	ни	ни
8	IgG	3D3	Fc-область IgG	-	+	+	ни
9	IgG1	2C11	Fc-область IgG1	+	+	ни	+
10	IgG2	9F10	Область шарнира IgG2	+	+	ни	ни
11	IgG3	5G12	Область шарнира IgG3	+	+	ни	ни
12	IgG4	5C7	C3-домен IgG4(pFc)	+	+	ни	ни
13	IgE	4F4	C3-домен IgE	+	+	-	ни
14	IgE	5D4	C2-домен IgE	+		ни	ни
15	κ-цепи	4G7	κ-цепи в Ig или свободные	+	+	+	+
16	κ-цепи	4C11	свободные κ-цепи	+	ни	+	ни
17	λ-цепи	2G9	λ-цепи в Ig или свободные	+	+	+	+
18	λ-цепи	3D12	свободные λ-цепи	+	-	+	ни
19	SC	5D8	SC в Ig или свободный	+	+	+	+
20	SC	6B3	свободный SC	+	+	+	ни
21	J-цепь	8A6	свободная J-цепь	+	+	+	+

Примечание. ни – не исследовано.

Динамический диапазон двухцентровых систем иммуноанализа на основе МКат
и значения концентраций Ig в биологических жидкостях

Антиген	Динамический диапазон	Концентрация Ig в биологических жидкостях (мкг/мл)			
		кровь	слюна	ликвор	моча
IgA	0,02–3,0	800–4500 (2650)	104	1,5	2,9
SIgA	0,001–0,2	2,8	74	0,02	
IgM	0,01–2,0	460–2500 (1500)	4	0,5	0,02
IgE	0,0002–0,1	0,005–0,36 (0,12)	0,00025	–	–
IgG	0,02–10,0	4500–22000 (13000)	9	–	–
IgG1	0,09–5,8	3000–12000 (8500)	1,0	18	–
IgG2	0,1–3,5	1000–7500 (4000)	0,57	5	–
IgG3	0,05–0,9	200–1800 (750)	0,15	1,0	–
IgG4	0,02–0,4	100–1200 (600)	0,29	0,5	–
κ-цепи	0,01–0,5	6–13		0–0,04	3–8
λ-цепи	0,0005–0,05	0,2–1,3		0–0,002	0,001–0,04

Примечание. «–» – отсутствие данных, в скобках указаны средние значения.

содержание всех типов, классов и подклассов Ig, а также легких цепей. При апробации лабораторных вариантов тест-систем, предназначенных для этих целей, были разработаны серии калибрующих образцов и установлены нижние и верхние пределы детекции каждого из анализов (табл. 4).

Результаты проведенных Государственных испытаний позволили Комитету по иммунобиологическим препаратам при ГИСК им. Л. А. Тарасевича рекомендовать описанную панель МКАТ для практического применения.

Государственный Фармакопейный комитет утвердил фармакопейные статьи «Антитела моноклональные диагностические против легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов человека» (№ 42-0190-0593-00) и «Антитела моноклональные диагностические против легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов человека, меченные пероксидазой» (№ 42-0596-6366-05).

МКАТ ПРОТИВ Ig В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Спектр заболеваний человека, при которых наблюдают отклонения в содержании Ig той или иной разновидности, чрезвычайно широк. В качестве иллюстрации в табл. 5 приведены данные об изменениях концентраций подклассов IgG при ряде патологических состояний.

Известны категории заболеваний, при которых наличие и уровень Ig или антител определенной специфичности существенны для постановки диагноза, оценки прогноза, выбора методов лечения и профилактики. К первой из них относят инфекционные заболевания. Выявление антител против инфекционных агентов, позволяет: 1) определить

возбудителя, меры терапии и профилактики; 2) определить стадию инфекционного процесса; 3) оценить уровень популяционного иммунитета и определить необходимость вакцинации; 4) обнаружить индивидов с иммунодефицитными состояниями.

Вторую категорию составляют аллергические заболевания. Обнаружение IgE-антител, специфичных в отношении тех или иных аллергенов, дает возможность установить природу заболевания, свести к минимуму контакты с аллергеном, выбрать метод десенсибилизирующей терапии и контролировать ее результаты. Количественное определение суммарной концентрации IgE является тестом, позволяющим судить о состоянии регуляции синтеза Ig в организме. При десенсибилизирующей терапии важно также контролировать уровень специфичных к аллергену антител подклассов IgG1 и IgG4.

Аутоиммунные заболевания составляют третью категорию состояний, при которых наблюдают клинически значимые сдвиги в продукции Ig. Высокий уровень аутоантител может служить фактором патогенеза и маркером распространенных заболеваний (ряд форм диабета, нефритов, тиреоидитов и др.).

Четвертая категория заболеваний с клинически значимыми сдвигами в содержании Ig объединяет ряд состояний, называемых гаммапатиями. Их общим признаком является присутствие в крови или иной биологической жидкости парапротеинов – гомогенных фракций Ig или их фрагментов, каждый из которых является продуктом единичного клона лимфоидных клеток. Подтверждение моноклональной природы обнаруженного Ig получают путем установления его иммунохимической гомогенности. Для этого с помощью моноспецифических реагентов определяют тип составляющих молекулу легких це-

Таблица 5

Отклонения в содержании подклассов IgG в сыворотке при патологических состояниях

Виды патологии	Подклассы IgG			
	1	2	3	4
Повторные инфекции капс. бактериями		↓		↓
Возвратные пневмонии, бронхоэктазии		↓	↓	↓
Воспаление среднего уха у детей		↓		
Муковисцидоз, инфекция <i>P.aeruginosa</i>		↑		
Сепсис новорожденных	↓	↓	↓	
СПИД	↓	↓	↓	↓
Непереносимость пищи, диаррея	↓	↓	↓	↓
Бронхиальная астма		↓	↓	↓
Атопическая экзема, дерматит				↑
Васкулиты, тромбопенич. пурпура	↓	↓	↓	↓
Аутоиммунные болезни		↓		
Сахарный диабет, тип I			↓	
Устойчивая к терапии эпилепсия		↓		
Атаксия			↓	
Атаксия-телеангиэктазия		↓		↓
Врожденный дефицит комплемента				↓
Дефицит С3-компонента		↓		
Дефицит IgA		↓	↓	↓
Множественная миелома	↑	↑	↑	↑
После пересадки костного мозга	↓	↓	↓	↓

Примечание. Знаком ↓ обозначено снижение концентрации, знаком ↑ – повышение концентрации.

пей, изотип и субизотип тяжелых цепей парапротеина. Кроме того, иммунохимический анализ позволяет по содержанию парапротеина оценивать численность клона клеток-продуцентов, а также проследить изменения типа парапротеина и скорость продукции его в ходе лечения и в период ремиссии [2].

Таким образом, выявление Ig применяется при диагностике инфекционных, аутоиммунных, аллергических заболеваний, иммунодефицитов и гаммапатий.

Полученные МКАТ были использованы в ряде лабораторий для разработки и совершенствования методов диагностики и мониторинга микробных и вирусных инфекций. Так, были проведены исследования, показавшие значимость определения субизотипического спектра антител при диагностике сифи-

лиса [29, 30]. МКАТ против классов и подклассов Ig служили инструментами выявления антител против вируса простого герпеса, респираторно-синцитиально вируса и ряда других инфекционных агентов [13, 20]

Разработанные системы двухцентрового анализа были использованы для определения концентраций IgE, IgG, IgM, IgA и подклассов IgG в сыворотках крови и в других биологических жидкостях пациентов при различных заболеваниях, а также при вакцинации [7, 22, 24].

Исследование изотипического спектра и уровня антител против аутоантигена-тиреоглобулина было проведено в сыворотках здоровых людей и пациентов с заболеваниями щитовидной железы. Естественные аутоантитела у здоровых людей представлены преимущественно IgM и IgA, тогда как развитие заболевания сопровождается переключением на синтез аутоантител изотипов IgG2 и IgG4, направленных против других эпитопов молекулы тиреоглобулина [18]. На рис. 3 в качестве примера приведены результаты выявления аутоантител против тиреоглобулина у группы школьников из экологически неблагоприятного региона. У 10% обследуемых было обнаружено существенное повышение титров аутоантител. В части случаев доминировали аутоантитела изотипа IgM. В другой группе образцов сыворотки, наряду с IgM, были обнаружены высокие титры аутоантител, принадлежавших практически ко всем подклассам IgG.

Выявление и количественное определение с помощью МКАТ аутоантител классов IgG и IgE против основного белка миеллина показало, что эти показатели могут иметь важное прогностическое значение у людей, страдающих острыми вирусными энцефалитами и рассеянным склерозом [9, 10].

Важным диагностическим признаком рассеянного склероза считают появление в спинномозговой жидкости Ig ограниченной гетерогенности и повышенное содержание свободных легких цепей. Указанные сдвиги рассматриваются как проявления доброкачественной олигоклональной гаммапатии [36]. Тест-системы детекции свободных цепей κ- и λ-типа, созданные на основе МКАТ, полученных в настоящей работе, были использованы для изучения спинномозговой жидкости пациентов, страдающих рассеянным склерозом. Содержание свободных λ-цепей было увеличено в 2,5–3 раза, а уровень свободных κ-цепей превосходил нормальный в 20 раз. Такой сдвиг был обнаружен у 85% больных. Анализ полученных данных показал, что увеличение содержания легких цепей при рассеянном склерозе является следствием интратекального синтеза Ig и что повышение уровня свободных κ-цепей или легких цепей обоих типов в ликворе является признаком,

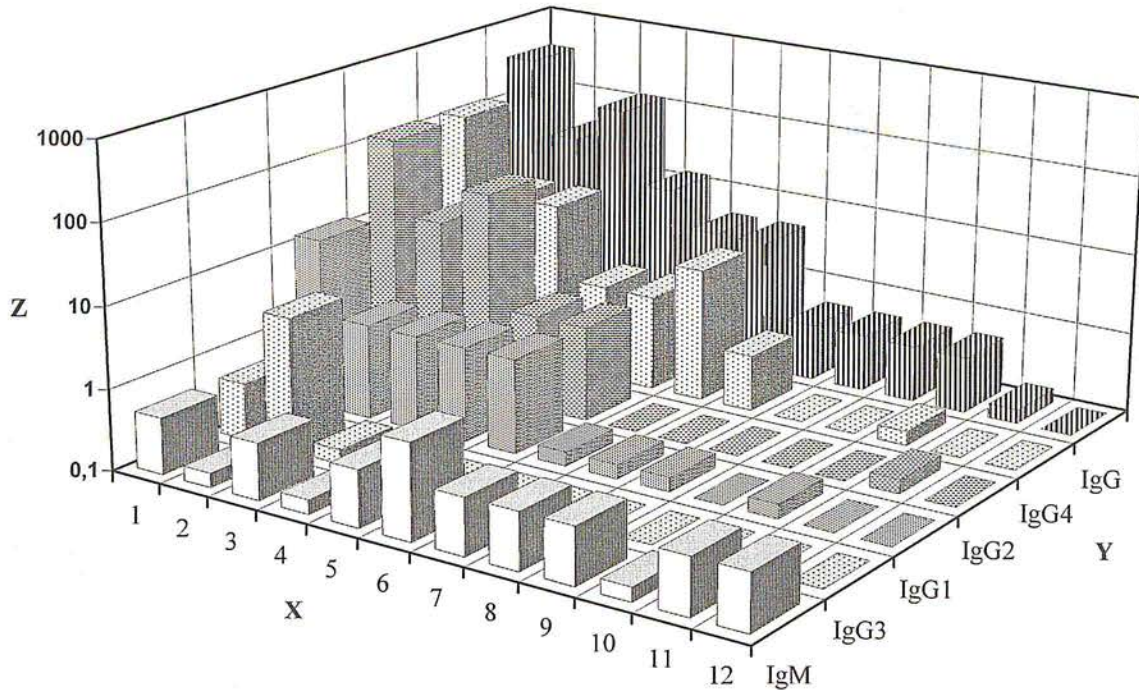


Рис. 3. Изотипические спектры аутоантител против тиреоглобулина в сыворотках крови человека. Выявляющими реагентами служили меченные пероксидазой МКАТ против IgM, IgG или подклассов IgG. Ось X – шифры образцов сыворотки, ось Y – изотипы аутоантител, ось Z – обратные титры аутоантител ($\times 10^3$)

позволяющим отграничивать рассеянный склероз от других неврологических заболеваний [32, 33, 34]. Эти выводы согласуются с данными литературы [40, 47].

В отличие от рассеянного склероза множественная миелома является типичной злокачественной гаммапатией, сопровождающейся продукцией гомогенных Ig [1, 2]. Выявление этих белков и определение их изотипической принадлежности способствует уточнению диагноза и прогноза, оценке эффективности лечения, выявлению рецидивов и признаков опухолевой прогрессии. Исследованию подвергали образцы сыворотки пациентов, в которых при электрофоретическом исследовании был обнаружен гомогенный белок в зоне гамма-глобулинов. Использовали двухдетерминантный вариант твердофазного ИФА, для чего МКАТ против тяжелых цепей Ig адсорбировали на твердой фазе, а реагентами, выявляющими присоединенные к иммуносорбенту Ig, служили конъюгаты МКАТ против κ - или λ -цепей. Для определения показателей, характеризующих нормальный уровень Ig, использовали пул сывороток 300 доноров с известным содержанием Ig всех классов и подклассов. Примеры выявления парапротеинов, принадлежащих к IgA, IgM и четырем подклассам IgG, приведены на рис. 4. Среди 210 обследованных образцов в 57% случаев были обнаружены парапротеины κ -типа, а в 43% – λ -типа. В 107 образцах сывороток (63%) были обнаружены IgG1. Парапротеины, относящиеся к

IgG2 и IgG3, были выявлены соответственно у пяти и у четырех пациентов. Из 8 образцов, содержащих IgG4, был обнаружен лишь один парапротеин λ -типа. В 26 сыворотках был выявлен IgA-парапротеин. В трех из 13 сывороток пациентов с макроглобулинемией Вальденстрема были обнаружены IgM λ -типа, а в 10 – IgM κ -типа. В четырех образцах парапротеины не реагировали ни с одним из МКАТ против тяжелых цепей. В одном из них с помощью поликлональной антисыворотки был идентифицирован IgD, а в остальных трех – свободные легкие цепи, характерные для миеломы Бенс-Джонса. Среди обследованных образцов не было обнаружено случаев, не поддающихся типированию, что можно рассматривать как свидетельство того, что МКАТ, включенные в типизирующую панель, распознают консервативные классы и подкласс-специфичные эпитопы Ig.

Накоплен обширный объем данных, указывающих на диагностическую значимость выявления Ig в тканях и биологических жидкостях, регионарных по отношению к очагу развития патологического процесса. Методы изучения местного иммунитета отличаются от обычно применяемых для исследования сыворотки крови. Это касается как сбора материала и его обработки, так и способов определения иммунологических показателей. Количественное содержание и качественный состав Ig в жидкостях замкнутых полостей (в ликворе, синовиальной жидкости, плевральной жидкости, лимфе), а также во внешних секретах (в бронхоальвеолярной жидкости, в секретах мочеполовых путей, в содержи-

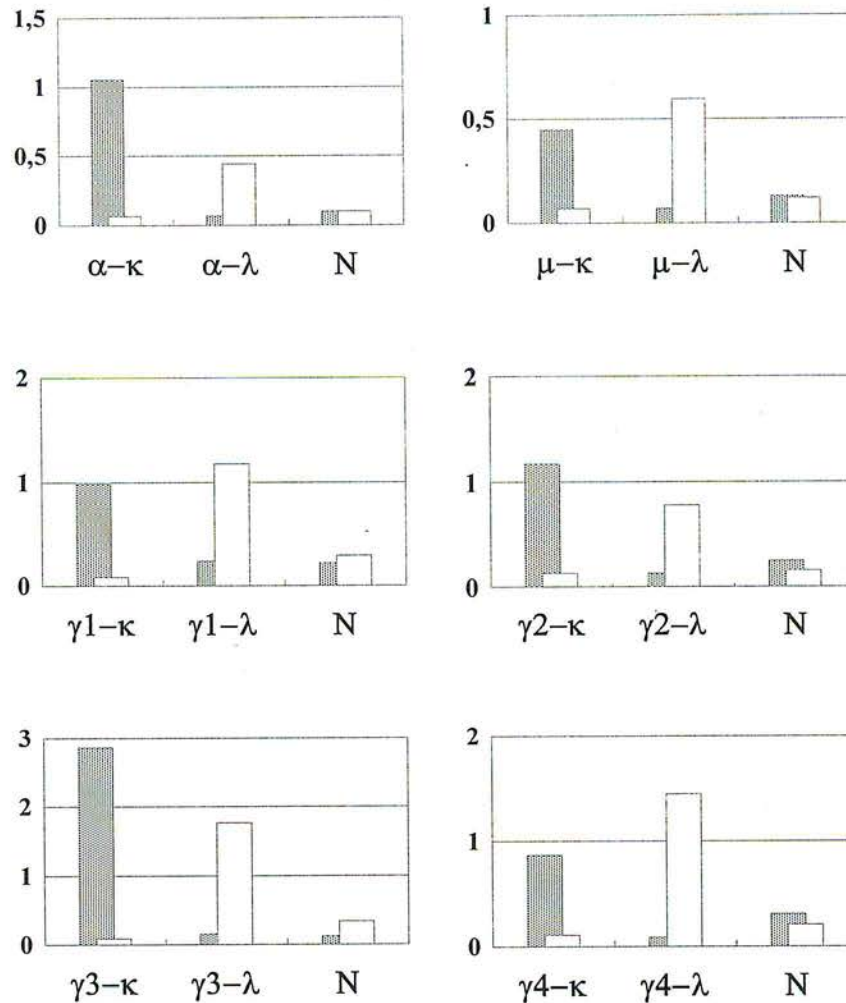


Рис. 4. Типирование парапротеинов с помощью двухдетерминантного ИФА.

МКАТ против изотип- или субизотип-специфичных эпитопов Ig иммобилизовали на твердой фазе. Сыворотки пациентов инкубировали в планшетах и связавшиеся с твердой фазой Ig выявляли с помощью МКАТ против легких цепей κ- (темные столбцы) или λ-типов (светлые столбцы). На каждой гистограмме представлены результаты исследования сывороток 2 пациентов, содержащих парапротеины одного из альтернативных типов, и сыворотки здоровых доноров (N).

По оси абсцисс – тип и изотип или субизотип выявленного парапротеина, по оси ординат – значения оптической плотности

мом носовой полости, в слезной жидкости, в поте, моче и др.) принципиально отличается от такового в крови. Корректное определение концентрации и состава Ig в этих биологических жидкостях требует высокочувствительных и специфичных тестов. Именно это обстоятельство учитывалось в первую очередь при разработке на основе полученных МкАт двухцентровых систем ИФА для детекции Ig человека. Использование одних и тех же двухцентровых тест-систем при исследовании как сыворотки крови, так и остальных биологических жидкостей является фактором стандартизации методов иммуноанализа и залогом сопоставимости получаемых результатов [51]. Разработанные алгоритмы проведения иммуноанализа и проверки корректности получаемых результатов привели к заключению о том, что уровень чувствительности и специфичности разработанных систем позволяет выявлять IgA, IgM, IgG, IgE, а так-

же IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 в различных биологических жидкостях [31, 35].

Полученные и охарактеризованные в настоящей работе МкАт против Ig использованы и при выполнении ряда фундаментальных исследований. Так, с помощью реагентов, направленных к изотипическим и субизотипическим маркерам IgG, было установлено, что спектр Ig, связанных с клетками карцином человека, отличается от спектра сывороточных IgG преобладанием IgG1 и уменьшением доли IgG остальных подклассов [4]. МкАт позволили провести иммуноаффинное выделение и идентификацию фракции IgG1-антител и изучить их термодинамические характеристики [5]. МКАТ против легких цепей были использованы для исследования процессов агрегации и образования амилоидных фибрилл из молекул легких цепей в растворе [6]. МКАТ против IgE были применены для изучения механизмов вза-

имодействия молекул IgE с высокоаффинным мембранным рецептором Fcε-RI [49, 50].

В целом опыт применения полученных МКАТ в фундаментальных и прикладных исследованиях показал, что эти реагенты обеспечивают более высокий уровень чувствительности, воспроизводимости и специфичности иммунохимического анализа. В то же время некоторые возможности применения полученных МКАТ до настоящего времени не реализованы. Так, весьма перспективным представляется более широкое использование всей совокупности описанных реагентов для картирования антигенных участков Ig, для исследований взаимосвязи их структуры и функций, процессов биосинтеза и изменчивости. Применение МКАТ в качестве реагентов для проточной цитометрии в исследованиях на уровне целостного организма позволяет путем выявления циркулирующих клеток-продуцентов Ig разных типов, изотипов и субизотипов исследовать механизмы регуляции иммунных реакций, влияние на них биологически активных веществ, фармакологических препаратов и факторов внешней среды. В области практической медицины перспективными сферами применения полученных МКАТ являются исследования эффективности вакцинации и показателей популяционного иммунитета, выявление врожденных и приобретенных иммунодефицитов, стандартизация и контроль качества препаратов Ig лечебного назначения.

Авторы выражают признательность коллегам – авторам и соавторам цитированных публикаций – за активное и плодотворное участие в выполнении исследований.

Литература

1. *Абелев Г. И.* Молекулярная биология В-клеточных неоплазий: анализ природы и клинические перспективы // Журн. Всесоюз. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева. 1986. Т. 31. С. 318–326.
2. *Андреева Н. Е., Чернохвостова Е. В.* Иммуноглобулинопатии. М.: Медицина, 1985. 240 с.
3. *Асатурян М. А., Самойлович М. П., Климович В. Б.* Изучение иммунологических характеристик лабораторной модели лимфогранулоцитоза // Диагностика и лечение лимфом. Л., 1981. С. 219–220.
4. *Близникоff О. П., Климович В. Б., Козмин Л. Д.* и др. Особенности IgG, связанных с клетками карцином человека // Иммунология. 2000. № 1. С. 18–21.
5. *Близникоff О. П., Козмин Л. Д., Климович В. Б.* и др. Термодинамическая стабильность и функциональная активность опухолево-ассоциированных антигенов // Биохимия. 2001. Т. 66. Вып. 1. С. 37–45.
6. *Близникоff О. П., Козмин А. Н., Тищенко Е. В.* и др. Легкие цепи иммуноглобулинов человека образуют фибриллы амилоида и гранулярные агрегаты в растворе // Биохимия. 2005. Т. 70. С. 556–567.
7. *Бобков Ю. А., Аль-Шукри С. Х., Горбачев А. Г.* и др. Информативность показателей местного иммунитета при хроническом простатите // Мед. иммунол. 2000. Т. 2. С. 401–408.
8. *Браун Дж., Линг Н. Р.* Моноклональные антитела мыши // Антитела. Методы. Книга 1 / Под ред. Д. Кэтти. М.: Мир, 1991. С. 116–152.
9. *Воробьева Н. Л., Гервазиева В. Б., Идрисова Ж. Р., Петрухин А. С.* Клинико-иммунологические аспекты патогенеза вирусных энцефалитов // Мед. иммунол. 2001. Т. 3. С. 541–544.
10. *Гервазиева В. Б., Воробьева Н. Л., Завалишин И. А.* Количественное определение IgG-антител к основному белку миелина у больных рассеянным склерозом // Мед. иммунол. 1999. Т. 1. С. 79–82.
11. *Грязева И. В., Климович В. Б., Пащикова С. Ф.* Моноклональные антитела к легким цепям иммуноглобулинов человека и их применение в иммуноанализе // Иммунология. 1994. № 3. С. 31–37.
12. *Гордиенко, Кривошеин Ю. С., Малый К. Д., Климович В. Б.* Использование моноклональных антител и биотин-стрептавидиновой системы усиления для количественного определения IgE человека // Микробиол. журн. 1996. Т. 58. № 2. С. 75–80.
13. *Зазимко Л. А., Кузенкова А. В., Иванова И. А.* и др. Антитела к вирусу простого герпеса, относящиеся к IgM, IgG и подклассам IgG, у лиц разного возраста // Вопр. вирусол. 2000. № 6. С. 28–30.
14. *Климович В. Б., Самойлович М. П., Грязева И. В.* и др. Штамм культивируемых клеток животных вида *Mus musculus L.*, ВСКК (П) № 7Д – миелома мышей, используемая для получения гибридом. Автор. свидетельство № 131982, 1986.
15. *Климович В. Б., Самойлович М. П., Крутецкая И. Ю.* и др. Получение и иммунохимическая характеристика моноклональных антител против IgM человека // Биотехнология. 1997. № 4. С. 40–46.
16. *Климович В. Б., Самойлович М. П., Крутецкая И. Ю., Пащикова С. Ф.* Моноклональные антитела против подклассов IgG человека. Эпитопная специфичность и применение в иммуноанализе // Иммунология. 1998. № 3. С. 30–32.
17. *Климович В. Б., Самойлович М. П., Грязева И. В.* и др. Моноклональные антитела на основе репертуара иммунного ответа мышей линии SJL/J // Мед. иммунол. 1999. Т. 1. № 1–2. С. 47–58.
18. *Климович В. Б., Руденко И. Я., Василевский Д. И., Львова О. А.* Изотипический состав и эпитопная специфичность аутоантител против тиреоглобулина // Мед. иммунол. 2000. Т. 2. № 4. С. 377–384.
19. *Климович В. Б., Самойлович М. П.* Иммуноглобулин А (IgA) и его рецепторы (обзор литературы) // Мед. иммунол. 2006. Т. 8. № 4. С. 483–500.
20. *Кривицкая В. З., Александрова Н. А., Похазникова М. А.* Анти-РС-вирусный IgE при респираторно-синцитиально-вирусной инфекции у взрослых пациентов с осложненным течением бронхита // Журн. микробиол. 1998. № 4. С. 56–61.
21. Моноклональные антитела. Гибридомы: новый уровень биологического анализа / Под ред. Р. Кеннета, Т. Мак-Керна, К. Бехтола, М., 1983. 416 с.
22. *Найхин А. Н., Михайлов А. А., Кустикова Ю. Г.* и др. Использование слюны для изучения в иммуно-

- ферментном анализе поствакцинального и постинфекционного иммунитета к гриппу // *Вопр. вирусол.* 1993. № 5. С. 201–204.
23. Номенклатура иммуноглобулинов. Всемирная организация здравоохранения // *Биохимия.* 1965. Т. 30. С. 443; *Мол. биол.* 1970. Т. 4. С. 790.
 24. *Нестеров И. М., Галкина О. В., Айламазян Э. К.* и др. Клинико-иммунологическая эффективность применения линимента циклоферона в ходе местной терапии вагинальных инфекций // *Мед. иммунол.* 2001. Т. 3. С. 77–88.
 25. *Самойлович М. П., Грязева И. В., Климович В. В.* и др. Моноклональные антитела против J-цепи полимерных иммуноглобулинов // *Рос. иммунол. журн.* 2008. Т. 3 (12). [В печати].
 26. *Самойлович М. П., Климович В. Б., Пашкова С. Ф.* Профили антиген-связывающей активности моноклональных антител к IgG человека // *Иммунология.* 1996. № 2. С. 38–43.
 27. *Самойлович М. П., Крутецкая И. Ю., Климович В. Б.* и др. Моноклональные антитела против подклассов IgG человека. Получение и определение специфичности // *Иммунология.* 1998. № 3. С. 27–30.
 28. *Самойлович М. П., Грязева И. В., Денисова Г. Н.* и др. Получение гибридом на средах с сывороткой крупного рогатого скота // Моноклональные антитела в микробиологии и вирусологии / Труды ЦНИИВС им. И. И. Мечникова. М., 1985. С. 121–129.
 29. *Сбойчаков В. Б., Самцов А. В., Сухарев А. В.* и др. Изучение структуры и динамики специфического иммунного ответа у больных сифилисом с помощью синтетического фрагмента TmpA-антигена *T. pallidum* // *Журн. дермато-венерол. и косметол.* 2000. № 1. С. 5–10.
 30. *Сбойчаков В. Б., Иванов А. М., Теличко И. Н.* и др. Использование искусственных аналогов трепонемных антигенов в диагностике раннего нейросифилиса // *Журн. дермато-венерол. и косметол.* 2002. № 1. С. 30–34.
 31. *Тотолян А. А.* Современные подходы к диагностике иммунопатологических состояний // *Мед. иммунол.* 1999. Т. 1. С. 75–108.
 32. *Тотолян Н. А., Грязева И. В., Климович В. Б., Тотолян А. А.* Интраклеточный синтез свободных легких цепей иммуноглобулинов и его связь с другими иммунными нарушениями у больных рассеянным склерозом // *Иммунология.* 1994. № 1. С. 54–57.
 33. *Тотолян Н. А., Грязева И. В., Климович В. Б., Скоромец А. А.* Содержание свободных легких цепей иммуноглобулинов в ликворе и значение его определения для дифференциальной диагностики рассеянного склероза // *Журн. невропатол. и психиатрии* им. С. С. Корсакова. 1994. Т. 94. С. 49–53.
 34. *Тотолян Н. А., Грязева И. В., Климович В. Б., Тотолян А. А.* Свободные легкие цепи иммуноглобулинов в биологических жидкостях больных рассеянным склерозом // *Журн. неврол. и психиатрии* им. С. С. Корсакова. 1997. Т. 97. № 5. С. 34–38.
 35. *Тотолян А. А., Самойлович М. П., Алешина Л. А.* и др. Программа внешнего контроля качества определения общего иммуноглобулина Е // *Клин. и лаб. диагн.* 2002. № 3. С. 3.
 36. *Энштейн Э.* Белки мозга и спинномозговой жидкости в норме и при патологии. М.: Мир, 1988. 276 с.
 37. *Boscato L., Egan G. M., Stuart M.* Specificity of two-site immunoassays // *J. Immunol. Methods.* 1989. Vol. 117. P. 221–229.
 38. *Calvanico N.* Structure and function of immunoglobulins // *Molecular Immunology. A textbook* / Ed. M. Z. Atassi, C. J. Oss van, D. R. Absolom, Marcel Dekker, Inc. New-York–Basel, 1984. Chapt. 7. P. 141–174.
 39. *Golub E.* Somatic mutation – diversity and regulation of the immune repertoire // *Cell.* 1987. Vol. 48. P. 723–724.
 40. *Fagnart O. C., Sindic C. J. M., Laterre E. C.* Free kappa and lambda light chains in the cerebrospinal fluid from patients with multiple sclerosis and other neurological diseases // *J. Neuroimmunol.* 1988. Vol. 19. P. 119–132.
 41. *Frazer K. J., Capra D.* Immunoglobulins: structure and function // *Fundamental immunology* / Ed. W. E. Paul. Lippincott-Raven Publishers, N-Y, 1999. С. 37–74.
 42. *Lange de G.* Allotypes and other epitopes of immunoglobulins // *Bailliere's Clinical Immunol.* Vol. 4. P. 903–925.
 43. *Milstein C.* With the benefit of hindsight // *Immunol. Today.* 2000. Vol. 21. P. 359–364.
 44. *Nezlin R.* The immunoglobulins. Structure and function. N-Y: Acad Press, 1998. 269 p.
 45. *Rajewsky K., Foster I., Cumano A.* Evolutionary and somatic selection of the antibody repertoire in the mouse // *Science.* 1987. Vol. 238. P. 1088–1094.
 46. *Samoilovich M. P., Klimovich V. B., Gervazieva V. B.* et al. A new family of monoclonal antibodies against human IgE // *Allergy & Clinical Immunology News.* 1992. Vol. 4. P. 21–25.
 47. *Sindic C. J. and Laterre E. C.* Oligoclonal free kappa and lambda bands in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis and other neurological diseases. An immunoaffinity-mediated capillary blot study // *J. Neuroimmunol.* 1991. Vol. 33. P. 63–72.
 48. *Solomon A.* Bence-Jones proteins and light chains of immunoglobulins // *N. Engl. J. Med.* 1976. Vol. 294. P. 17–19.
 49. *Stadler D. M., Stampfi M. R., Miescher S.* et al. Biological activities of anti-IgE antibodies // *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1993. Vol. 102. P. 121–126.
 50. *Stampfi M. R., Rudolf M., Miescher S.* et al. Antigen-specific inhibition of IgE binding to high-affinity receptor // *Immunol.* 1996. Vol. 155. P. 2948–2954.
 51. *Thorpe R., Wadha M., Miresluis T.* Standardization of immunochemical procedures and reagents // *Immunochemistry 1. A practical approach* / Ed. A. P. Johnstone, M. W. Turner. Oxford University Press, 1997. P. 109–120.
 52. *Woof J. M., Mestecky J.* Mucosal immunoglobulins // *Immunological. Rev.* 2005. Vol. 206. P. 64–82.

Представлена академиком РАМН А. М. Грановым

СВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ АДИПОНЕКТИНА В КРОВИ МУЖЧИН С ОБМЕНОМ УГЛЕВОДОВ И ЛИПИДОВ

ТАНЯНСКИЙ Д. А., ФИРОВА Э. М., ШАТИЛИНА Л. В., ДЕНИСЕНКО А. Д.
ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН»,
Санкт-Петербург

Таянский Д. А., Фирова Э. М., Шатилина Л. В., Денисенко А. Д. Связь содержания адипонектина в крови мужчин с обменом углеводов и липидов // Мед. академ. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 96–102. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

Изучены связи содержания в крови одного из адипокинов – биологически активных веществ, вырабатываемых жировой тканью, – адипонектина, с показателями обмена углеводов и липидов у мужчин. Выяснилось, что концентрация адипонектина в наибольшей степени связана с содержанием в крови неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) и является его независимым предиктором. Данная связь была отрицательная и прослеживалась как у лиц с нормальной массой тела, так и у пациентов с ожирением. В этих группах также выявлена отрицательная связь уровня адипонектина с частотой сахарного диабета 2 типа, однако, по данным регрессионного анализа, влияние адипокина на частоту этого заболевания зависело от присутствия в модели НЭЖК и триглицеридов.

На основании этих данных можно предположить, что у мужчин адипонектин действует главным образом на метаболизм НЭЖК, и это действие в значительной степени обуславливает его антидиабетогенный эффект.

Ключевые слова: адипокины, адипонектин, метаболический синдром, неэстерифицированные жирные кислоты, дислипидемия, сахарный диабет 2 типа.

Tanjansky D. A., Firova E. M., Shatilina L. V., Denisenko A. D. Relationship of adiponectin content in plasma with the lipid and carbohydrate metabolism in males // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 3. P. 96–102. Research Institute of Experimental Medicine of the RAMS, St. Petersburg, 197376.

We studied the relationships between concentration in the blood of one of the adipokines - biologically active proteins, derived from adipose tissue, - adiponectin with parameters of carbohydrate and lipid metabolism in males. It was found that adiponectin level was mainly related to the serum content of nonesterified fatty acids (NEFA) and was its independent determinant. This association was negative and took place in patients both of normal and excessive body mass index. In these groups there was a negative relationship between the adiponectin level and frequency of type 2 diabetes also. But in according to the linear multiply regression analysis, the influence of adiponectin on frequency of this disease depended on presence in the model of NEFA and triglycerides.

Upon this data, we suggest that in males adiponectin influence mainly on the NEFA metabolism, and this influence can explain its antidiabetogenic effect.

Key words: adiponectin, adipokines, metabolic syndrome, nonesterified fatty acids, dyslipidemia, type 2 diabetes.

Одной из ведущих причин высокой распространенности атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС) как в нашей стране, так и во многих других странах является комплекс нарушений, носящий название «метаболический синдром» (МС). В данный комплекс входят абдоминальный тип распределения жировой ткани, увеличение содержания в крови триглицеридов (ТГ) и снижение – холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛВП), повышение гликемии натощак и/или наличие сахарного диабета (СД) 2 типа, артериальная гипертензия (АГ) [14, 20]. Механизмы взаимосвязей этих нарушений остаются не до конца выясненными. Одной из гипотез, объясняющих эти взаимосвязи, является концепция адипокинов – белков жировой ткани, выработка которых изменяется при ожирении и/или абдоминальном распределении жировой ткани [21]. Установлено, что концентрация в крови некоторых биологически активных веществ, секретируемых

жировой тканью, при ожирении увеличивается (например, лептина, фактора некроза опухолей- α и др.), тогда как содержание адипонектина снижается [5, 9, 17, 21]. Кроме того, предполагается, что адипокины являются важными регуляторами липидного и углеводного обмена [21]. Так, по разным источникам, концентрация адипонектина отрицательно связана с инсулинорезистентностью [3, 17, 28], уровнем ТГ [3, 19, 28] и положительно – с содержанием ХС ЛВП [3, 18, 28]. Однако часто возникают противоречия, когда пытаются выявить факторы, независимо связанные с концентрацией адипонектина. Согласно данным, приведенным в одной из перечисленных работ [3], независимыми предикторами содержания адипонектина являются концентрации инсулина, ХС ЛВП, индекс массы тела (ИМТ) и возраст. В то же время, согласно другим данным [19], уровень адипонектина имеет независимые связи с ИМТ и содержанием ТГ, в то время как концентрации инсулина и ХС ЛВП

не являются независимыми детерминантами содержания данного адипокина. В более раннем нашем исследовании было показано, что среди метаболических показателей только уровень ТГ являлся независимой детерминантой концентрации адипонектина [2]. В том исследовании значительное влияние на связь уровня адипонектина с метаболическими показателями оказывали такие факторы, как пол, возраст и ИМТ. В настоящей работе мы сконцентрировали свое внимание на выяснении связей содержания адипонектина с показателями углеводного и липидного метаболизма у мужчин. Кроме того, для более детального изучения влияния ИМТ на выраженность этих связей, в данной работе также проведены исследования в группах пациентов с различным ИМТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошло 67 мужчин в возрасте $55,7 \pm 9,6$ года. У всех больных на момент поступления была диагностирована АГ согласно критериям, представленным на 7-м докладе Объединенного национального комитета США по профилактике, выявлению, оценке и лечению АГ (JNC 7) [11]. Значительная часть больных проходила лечение по поводу стабильной стенокардии 1 – 3 ф. к. Некоторые пациенты ($n = 12$) находились на лечении с диагнозом СД 2 типа, выставленном согласно критериям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 1999 г. [29]. Часть из них постоянно принимала таблетированные гипогликемические препараты (манинил, глибомед). Пациенты, принимавшие инсулин, были исключены из анализа. В исследование также не попали пациенты с заболеваниями печени и желчевыводящих путей и с дисфункцией щитовидной железы.

ИМТ рассчитывали по формуле: $\text{ИМТ} = \text{масса тела (кг)} / \text{рост}^2 (\text{м}^2)$. Определение концентраций глюкозы, показателей липидного спектра (кроме неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК)) проводили в сыворотке венозной крови, взятой утром натощак после 12-часового голодания. Затем сыворотки были заморожены и хранились при $t = -20^\circ\text{C}$ для дальнейшего определения содержаний адипонектина, лептина, инсулина и НЭЖК.

Показатели липидного спектра крови – общий холестерин (ОХС) и ТГ определялись наборами реактивов «Биокон» (Германия) на анализаторе ChemWell (США) [4, 8]. Концентрацию ХС ЛВП определяли прямым методом с использованием антител к ЛВП набора реактивов «Биокон» (Германия) на анализаторе ChemWell (США). Содержание ХС липопротеинов низкой плотности (ХС ЛНП) рассчитывалось по формуле Фридвальда: $\text{ХС ЛНП} = \text{ОХС} - (\text{ТГ}/2,2 + \text{ХС ЛВП})$ [15]. Интегральный показатель коэффициента атерогенности (КА) рассчитывался по формуле:

$\text{КА} = (\text{ОХС} - \text{ХС ЛВП}) / \text{ХС ЛВП}$ [1]. Концентрация НЭЖК определялась колориметрическим методом с помощью ферментных наборов фирмы «Randox» на спектрофотометре СФ-26 «ЛОМО» (Россия) [23].

Концентрация глюкозы определялась на биохимическом анализаторе EOS-BRAVO, Hospitex (Швеция) глюкозооксидазным методом. Содержание инсулина, $\mu\text{ЕД/мл}$, и лептина, нг/мл , определялось при помощи «сэндвич»-варианта иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов фирмы «DRG» (Германия) на микропланшетном ридере «Elx800» фирмы «ФинБио» (Финляндия). Для более точной оценки степени инсулинорезистентности использовался индекс HOMA (Homeostasis model assessment), определявшийся по формуле: $\text{HOMA} = \text{инсулин} (\mu\text{ЕД/мл}) \times \text{глюкоза} (\text{ммоль/л}) / 22,5$ [6].

Концентрация адипонектина, мкг/мл , определялась при помощи конкурентного варианта ИФА на наборах фирмы «BioVendor» (Чехия) на микропланшетном ридере «Elx800» фирмы «ФинБио» (Финляндия).

Статистическая обработка полученных данных проведена на компьютере с использованием пакета программ «Statistica 6.0». Данные представлены в виде средних арифметических значений и стандартных отклонений ($M \pm SD$). В статистическом анализе все параметры, за исключением возраста и показателей антропометрии, для увеличения нормальности их распределения трансформировали в логарифмированную форму. Анализ отличий антропометрических и метаболических показателей в тертилях концентраций адипонектина мы оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA test). Среди показателей, у которых выявили в группах достоверные изменения ($P < 0,05$), для попарных сравнений использовался апостериорный критерий Bonferroni (Post hoc Bonferroni test). Деление пациентов в каждой из категории ИМТ по содержанию адипонектина на 2 группы было осуществлено по медиане концентрации адипонектина. Достоверность отличий среди этих групп была оценена по t-критерию Стьюдента для независимых выборок, а для относительных величин, выраженных в % (частота СД 2 типа), применяли критерий χ^2 . Для выявления связей содержания адипонектина с различными параметрами проводили корреляционный анализ по Пирсону и множественный регрессионный анализ. Выявление независимых связей уровня адипонектина с различными параметрами проводили с помощью частных корреляций Пирсона с контролями по данным показателям, а также с помощью множественного регрессионного анализа. Уровень значимости считали достоверным при $p < 0,05$.

Основные клинико-метаболические показатели обследуемых лиц приведены в табл. 1.

Таблица 1

Клинико-метаболические показатели
обследованных лиц

Показатели	M ± SD	Размах
Количество	67	
Возраст, годы	55,66 ± 9,56	29–83
ИМТ, кг/м ²	28,67 ± 4,39	19,83–39,78
ОТ, см	98,67 ± 13,47	60–133
ОТ/ОБ	0,98 ± 0,09	0,76–1,20
Частота СД 2 типа, %	17,91	
Глюкоза, ммоль/л	6,08 ± 1,99	3,8–13,8
Инсулин, мкЕД/мл	11,36 ± 8,18	3,04–48,09
НОМА	3,09 ± 2,26	0,65–10,26
НЭЖК, ммоль/л	0,35 ± 0,22	0,04–1,12
ОХС, ммоль/л	6,12 ± 1,46	4,05–12,06
ТГ, ммоль/л	3,02 ± 2,71	0,88–14,69
ХС ЛВП, ммоль/л	1,04 ± 0,17	0,60–1,52
ХС ЛНП, ммоль/л	3,72 ± 1,35	0,88–7,46
КА	5,09 ± 1,76	2,00–12,10
Лептин, нг/мл	7,72 ± 5,71	2,23–37,50
Адипонектин, мкг/мл	4,74 ± 2,62	1,90–14,59

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Чтобы выявить возможные связи содержания адипонектина с показателями углеводного и липидного метаболизма, все обследованные пациенты были разделены на тертили по содержанию адипонектина (табл. 2). Оказалось, что с повышением концентрации данного адипокина наблюдается снижение уровня глюкозы, индекса НОМА, а также частоты СД 2 типа. Кроме того, при этом отмечается снижение содержания в крови ТГ и НЭЖК и увеличение – ХС ЛВП. Обращает на себя внимание также более высокий средний возраст и отсутствие достоверных изменений со стороны ИМТ и показателей распределения жировой ткани у лиц в группе с увеличенной концентрацией адипонектина.

Однако при корреляционном анализе (табл. 3) показатели антропометрии имеют отрицательные связи с содержанием адипонектина (окружность талии (ОТ) – на уровне тенденции – $p = 0,06$). Кроме того, выявлена положительная корреляция концентрации адипонектина с уровнем ХС ЛНП. Данные по корреляциям остальных показателей в целом подтверждают результаты анализа в тертилях. Однако после выравнивания по возрасту и ИМТ достоверной сохранилась лишь корреляционная связь между концентрациями адипонектина и НЭЖК.

В связи с влиянием ИМТ на корреляционные связи содержания адипонектина с изучаемыми параметрами, была проведена оценка влияния выраженности ожирения на зависимость средних уровней метаболических показателей от концентрации адипонектина. С этой целью были сформированы группы пациентов с различными ИМТ, каждая из которых была разделена на подгруппы в зависимости от содержания адипонектина (табл. 4). Оказалось, что в каждой из категорий ИМТ содержание адипонектина

Связь концентрации адипонектина в крови с показателями углеводного и липидного метаболизма

Таблица 2

Связь концентрации адипонектина в крови с показателями углеводного и липидного метаболизма

Показатели	Тертили			p ^S
	I (n=23)	II (n=21)	III (n=23)	
Адипонектин, мкг/мл	2,80 ± 0,40 (1,90–3,40)	4,13 ± 0,35 (3,55–4,69)	7,23 ± 3,08 (4,70–14,59)	<0,0001
Возраст, годы	51,61 ± 8,65	55,43 ± 7,14	59,91 ± 10,81**	0,011
ИМТ, кг/м ²	29,45 ± 3,24	29,02 ± 3,97	27,57 ± 5,57	Н. д.
ОТ, см	100,45 ± 10,03	100,05 ± 11,82	95,61 ± 17,37	Н. д.
ОТ/ОБ	1,00 ± 0,07	0,99 ± 0,08	0,95 ± 0,11	Н. д.
Частота СД 2 типа, %	39,13	4,76***	8,70***	
Глюкоза, ммоль/л	7,06 ± 2,79	5,73 ± 1,39	5,42 ± 0,85*	0,016
Инсулин, мкЕД/мл	13,14 ± 7,95	10,08 ± 5,26	10,76 ± 10,35	Н. д.
НОМА	4,03 ± 2,53	2,60 ± 1,46	2,60 ± 2,37*	0,032
НЭЖК, ммоль/л	0,46 ± 0,27	0,36 ± 0,20	0,23 ± 0,10*** #	<0,0001
ОХС, ммоль/л	6,14 ± 1,30	6,36 ± 1,95	5,89 ± 1,08	Н. д.
ТГ, ммоль/л	4,05 ± 3,48	3,28 ± 2,68*	1,74 ± 0,73**	0,002
ХС ЛВП, ммоль/л	0,97 ± 0,13	1,04 ± 0,18	1,10 ± 0,17*	0,021
ХС ЛНП, ммоль/л	3,34 ± 1,36	3,83 ± 1,53	3,99 ± 1,10	Н. д.
КА	5,46 ± 1,58	5,24 ± 2,19	4,58 ± 1,41	Н. д.
Лептин, нг/мл	7,23 ± 3,00	7,80 ± 5,38	8,16 ± 7,96	Н. д.

Примечание. ^S – значения достоверности отличий среди групп, определенные согласно однофакторному дисперсионному анализу. Отличия достоверны по сравнению с первой группой при: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ и по сравнению со второй группой при # – $p < 0,05$.

Таблица 3

Корреляционный анализ: связь содержания адипонектина с метаболическими показателями

Параметр	Без выравнивания	После выравнивания по возрасту и ИМТ
Возраст, годы	0,43*	–
ИМТ, кг/м ²	–0,33*	–
ОТ, см	–0,23	0,02
ОТ/ОБ	–0,33*	–0,15
Частота СД 2 типа, %	–0,32*	–0,23
Глюкоза, ммоль/л	–0,31*	–0,18
Инсулин, мкЕД/мл	–0,13	0,08
НОМА	–0,23	0,00
НЭЖК, ммоль/л	–0,46*	–0,29*
ОХС, ммоль/л	–0,02	0,04
ТГ, ммоль/л	–0,42*	–0,24
ХС ЛВП, ммоль/л	0,33*	0,13
ХС ЛНП, ммоль/л	0,25*	0,18
КА	–0,16	–0,03
Лептин, нг/мл	–0,13	0,13

Примечание. * – корреляции достоверны при $p < 0,05$.

было достоверно связано только с уровнем НЭЖК и частотой СД 2 типа. Среди остальных метаболических показателей только в группе пациентов с ожирением уровень ТГ уменьшался с пограничной достоверностью ($p = 0,055$), а индекс НОМА имел слабую тенденцию к уменьшению ($p = 0,1$).

Согласно пошаговому линейному регрессионному анализу после включения в модель таких параметров, как ИМТ, возраст, адипонектин, лептин, глюкоза и инсулин, единственным показателем, на который влияла концентрация адипонектина, был уровень НЭЖК ($\beta = -0,24$, $p = 0,04$). Содержание адипонектина оказывало существенное влияние также на уровень ТГ, однако это влияние в значительной степени зависело от уровней НЭЖК, глюкозы и частоты СД 2 типа. Влияние уровня адипонектина в крови на частоту СД 2 типа, в свою очередь, в значительной степени зависело от уровней НЭЖК и ТГ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящем исследовании мы изучили связь содержания адипонектина с показателями углеводного и липидного метаболизма у мужчин. Такие нарушения, как СД 2 типа, инсулинорезистентность и гиперинсулинемия, повышение уровня ТГ и снижение – ХС ЛВП, являются важными компонентами МС, который, в свою очередь, является одной из важнейших причин высокой распространенности атеросклероза и ИБС. Важную роль в патогенезе этих нарушений играет ожирение и/или абдоминальный тип распределения жировой ткани [14, 20]. Изучение роли адипокинов, и в частности адипонектина, является одним из подходов к исследованию механизмов развития метаболических нарушений при ожирении и абдоминальном распределении жировой ткани [9,

Таблица 4

Влияние содержания адипонектина на клинико-метаболические показатели у лиц с различным ИМТ

Показатель	Пациенты с нормальной и избыточной массой тела (ИМТ 22–28 кг/м ²)		Пациенты с ожирением (ИМТ ≥ 28 кг/м ²)	
	Низкий уровень адипонектина (< 4,4 мкг/мл)	Высокий уровень адипонектина ($\geq 4,4$ мкг/мл)	Низкий уровень адипонектина (< 3,84 мкг/мл)	Высокий уровень адипонектина ($\geq 3,84$ мкг/мл)
N	13	14	19	18
Адипонектин, мкг/мл	3,27 \pm 0,68	7,16 \pm 3,55**	2,97 \pm 0,52	5,06 \pm 1,25**
Возраст, годы	53,77 \pm 9,06	61,07 \pm 9,86	51,74 \pm 8,21	56,61 \pm 5,59*
ИМТ, кг/м ²	25,59 \pm 1,98	24,79 \pm 1,44	31,61 \pm 2,11	32,16 \pm 3,42
ОТ, см	90,23 \pm 9,16	90,93 \pm 9,62	105,58 \pm 7,38	108,06 \pm 11,09
ОТ/ОБ	0,97 \pm 0,11	0,92 \pm 0,06	1,01 \pm 0,03	1,04 \pm 0,07
Частота СД 2 типа, %	15,39	0**	36,84	16,67**
Глюкоза, ммоль/л	5,62 \pm 1,30	5,16 \pm 0,46	7,29 \pm 2,90	6,02 \pm 1,52
Инсулин, мкЕД/мл	11,43 \pm 8,64	9,21 \pm 7,05	13,21 \pm 6,63	12,04 \pm 10,38
НОМА	2,75 \pm 1,93	2,09 \pm 1,53	4,30 \pm 2,50	3,17 \pm 2,38
НЭЖК, ммоль/л	0,34 \pm 0,15	0,21 \pm 0,10*	0,51 \pm 0,30	0,32 \pm 0,12*
ОХС, ммоль/л	6,18 \pm 1,13	5,76 \pm 1,71	6,29 \pm 1,89	6,26 \pm 1,10
ТГ, ммоль/л	2,41 \pm 2,04	1,57 \pm 0,73	4,88 \pm 3,95	2,90 \pm 1,51
ХС ЛВП, ммоль/л	1,04 \pm 0,19	1,12 \pm 0,18	0,96 \pm 0,13	1,02 \pm 0,14
ХС ЛНП, ммоль/л	4,05 \pm 1,39	3,92 \pm 1,62	3,12 \pm 1,13	3,92 \pm 1,33
КА	5,13 \pm 1,50	4,50 \pm 1,93	5,66 \pm 2,22	5,13 \pm 1,13
Лептин, нг/мл	4,84 \pm 1,76	6,21 \pm 3,76	8,80 \pm 3,17	10,83 \pm 9,07

Примечание. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,0001$ по сравнению с пациентами с низким уровнем адипонектина в каждой из категорий ИМТ.

21]. Несмотря на то, что при анализе в тертилях нам не удалось выявить достоверные обратные связи содержания адипонектина с показателями ожирения и абдоминального распределения жировой ткани, корреляционный анализ такие связи выявил. В целом эти данные подтверждают уже давно устоявшийся факт об отрицательной связи уровня адипонектина с ожирением [5]. Однако отсутствие после выравнивания по возрасту и ИМТ корреляции содержания адипонектина с показателями абдоминального распределения жировой ткани противоречит известным данным о независимой связи уровня данного адипокина с этими показателями [17]. Не исключено, что это связано с особенностями выборки. В нашем исследовании принимали участие пациенты, у которых наблюдалась тесная связь между ожирением и абдоминальным распределением жировой ткани. Так, корреляция между ИМТ и такими показателями, как ОТ и ОТ/ОБ, была высокой ($r = 0,86$, $p < 0,001$ и $r = 0,72$, $p < 0,0001$ для ОТ и ОТ/ОБ соответственно). Поэтому, возможно, и возникают сложности при выявлении независимой от выраженности ожирения связи концентрации адипонектина с показателями абдоминального распределения жировой ткани.

Данных, согласно которым адипонектин является фактором, влияющим на содержание НЭЖК, в литературе мы не встречали. Более того, работ, в которых обнаружилась связь концентрации адипонектина с уровнем НЭЖК, оказалось не так много. В одной из таких работ [28] авторы, не найдя связи с содержанием НЭЖК натошак, все же выявили обратную связь концентрации адипонектина с уровнем НЭЖК при проведении теста толерантности к глюкозе. Интересно, что данная связь была независимой как от пола и содержания жировой ткани, так и от уровня инсулина в ходе данного теста. Иными словами, было показано, что, во всяком случае, часть влияния содержания адипонектина на уровень НЭЖК осуществляется независимо от влияния этого адипокина на инсулинчувствительность. Есть основания полагать, что в данной взаимосвязи адипонектин играет патогенетическую роль. Так, в экспериментах на животных показано, что и трансгенот по адипонектину, и внутривенное введение данного белка приводят к снижению плазменного уровня НЭЖК [16, 30]. Данный феномен может быть связан с увеличением окисления НЭЖК в скелетных мышцах под влиянием адипонектина, что показано как на животных [16, 30], так и на людях [7, 10].

В предыдущем нашем исследовании мы показали, что концентрация адипонектина является независимым предиктором содержания ТГ [2]. Однако согласно результатам настоящего исследования, влияние концентрации данного адипокина на уровень ТГ в значительной степени реализуется через содер-

жание НЭЖК. Следует отметить, что в работах различных авторов существуют противоречия относительно независимой связи содержания адипонектина с уровнем ТГ, как и с уровнями других показателей липидного обмена. Так, авторы исследования [19] среди показателей липидного обмена обнаружили независимую связь концентрации адипонектина с уровнем ТГ, в то время как в работе [3] была обнаружена независимая связь только с содержанием ХС ЛВП. Более того, существует ряд исследований, в которых авторы не выявили независимой связи уровня адипонектина с каким-либо из показателей липидного обмена [12, 26]. Вместе с тем следует признать, что в большинстве работ, которые были нами проанализированы, адипонектин все же имел независимую связь с концентрацией ХС ЛВП, а работы, в которых прослеживалась связь адипонектина только с ТГ или не было выявлено связи ни с одним из показателей липидного обмена, встречались относительно редко.

Другим показателем, который имеет слабую независимую от возраста и ИМТ связь с содержанием адипонектина, является частота СД 2 типа. Несмотря на то, что при корреляционном анализе после выравнивания по этим параметрам данная связь была лишь на уровне тенденции, в группах, выровненных по ИМТ, достоверные связи частоты СД 2 типа с уровнем адипонектина обнаружались. Согласно регрессионному анализу, как и в случае с уровнем ТГ, на связь содержания адипонектина с данным показателем значительное влияние оказывает концентрация НЭЖК. Однако, как показал ряд одномоментных и проспективных исследований, уровень адипонектина является независимым предиктором СД 2 типа [13, 19, 24]. Удивительно, но среди работ, посвященных этой теме, мы не нашли исследований, где бы определялось содержание НЭЖК. Вместе с тем, как известно, НЭЖК могут оказывать влияние как на чувствительность тканей к инсулину, так и на секрецию β -клетками инсулина [22]. Кроме того, на примере ряда популяций уже давно показана независимая роль НЭЖК в развитии СД 2 типа [25]. Поэтому нельзя исключить, что в ряде из этих исследований влияние содержания адипонектина на частоту СД 2 типа могло быть реализовано через НЭЖК.

Среди показателей углеводного метаболизма, таких, как уровни инсулина, глюкозы и индекс НОМА, нам не удалось выявить независимые связи их с содержанием адипонектина. Эти данные вступают в противоречия с результатами многих исследований, согласно которым уровень адипонектина имеет независимую связь с гиперинсулинемией и индексом НОМА [3, 17, 18, 28]. Однако следует отметить, что не во всех исследованиях такие связи были выявлены. В этом плане сходные с нашей работой резуль-

таты найдены у Hotta et al. [19]. Так, согласно этим исследованиям, уровень адипонектина имел независимую связь с частотой СД 2 типа, в то время как связь содержания адипонектина с концентрацией инсулина отсутствовала. Есть и другие исследования, в которых также не было выявлено связи уровня адипонектина с гиперинсулинемией [27], хотя таких работ нам встречалось не так много. Причины расхождения этих данных для нас остаются пока невыясненными.

Таким образом, в настоящем исследовании показано, что у мужчин среди параметров углеводного и липидного метаболизма содержание адипонектина имеет независимую связь только с уровнем НЭЖК. Кроме того, на основании полученных данных можно предполагать, что участие адипонектина в генезе гипертриглицеридемии и СД 2 типа у этих обследуемых в значительной степени реализуется через влияние этого адипокина на метаболизм НЭЖК.

Авторы выражают благодарность старшему научному сотруднику отдела биохимии НИИЭМ РАМН, д. м. н. Н. Г. Никульчевой за просмотр и обсуждение рукописи.

Литература

1. Климов А. Н., Никульчева Н. Г. Обмен липидов и липопротеинов и его нарушения. СПб.: Питер Ком, 1999.
2. Фирова Э. М., Тяньский Д. А., Денисенко А. Д. Уровень адипонектина у пациентов с метаболическим синдромом // Материалы научно-практической конференции «Современная кардиология: наука и практика» // Вестн. СПбГМА им. И. И. Мечникова (приложение). 2007. № 2 (2). С. 184–185.
3. Abbasi F., Chu J., Lamendola C. et al. Discrimination between obesity and insulin resistance in the relationship with adiponectin // *Diabetes*. 2004. Vol. 53. P. 585–590.
4. Allain C., Poon L., Chan C. et al. Enzymatic determination of total serum cholesterol // *Clin. Chem*. 1974. Vol. 20. P. 470–475.
5. Arita Y., Kihara S., Ouchi N. et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1999. Vol. 257. № 1. P. 79–83.
6. Borona E., Targher G., Alberiche M. et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity // *Diabetes Care*. 2000. Vol. 23. P. 57–63.
7. Bruce C. R., Mertz V. A., Heigenhauser G. J. F., Dyck D. J. The stimulatory effect of globular adiponectin on insulin-stimulated glucose uptake and fatty acid oxidation is impaired in skeletal muscle from obese subjects // *Diabetes*. 2005. Vol. 54. P. 3154–3160.
8. Bucolo G., David H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes // *Clin. Chem*. 1973. Vol. 19. P. 476–482.
9. Chandran M., Phillips S. A., Ciaraldi T., Henry R. R. Adiponectin: more just another fat cell hormone? // *Diabetes Care*. 2003. Vol. 26. P. 2442–2450.
10. Chen M. B., McAinch A. J., Macaulay S. L. et al. Impaired activation of AMP-kinase and fatty acid oxidation by globular adiponectin in cultured human skeletal muscle of obese type 2 diabetics // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2005. Vol. 90. P. 3665–3672.
11. Chobanian A., Bakris G., Black H. et al. Seventh report of the Joint National Committee of prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure // *Hypertension*. 2003. Vol. 42. P. 1206–1252.
12. Choi K. M., Lee J., Lee K. W. et al. The associations between plasma adiponectin, ghrelin levels and cardiovascular risk factors // *Eur. J. Endocrinol*. 2004. Vol. 150. P. 715–718.
13. Duncan B. B., Schmidt M. I., Pankow J. S. et al. Adiponectin and the development of type 2 diabetes. The Atherosclerosis Risk in Communities Study // *Diabetes*. 2004. Vol. 53. P. 2473–2478.
14. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) // *JAMA*. 2001. Vol. 285. № 19. P. 2486–2497.
15. Friedwald W., Levy R., Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparation ultracentrifuge // *Clin. Chem*. 1972. Vol. 18. P. 499–509.
16. Fruebis J., Tsao T.-S., Javorschi S. et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice // *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2001. Vol. 98. P. 2005–2010.
17. Gavrilu A., Chan J. L., Yiannakouris N. et al. Serum adiponectin levels are inversely associated with overall and central fat distribution but are not directly regulated by acute fasting or leptin administration in humans: cross-sectional and interventional studies // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2003. Vol. 88. P. 4823–4831.
18. Hanley A. J. G., Bowden D., Wagenknecht L. E. Associations of adiponectin with body fat distribution and insulin sensitivity in nondiabetic hispanics and african-americans // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2007. Vol. 92. P. 2665–2671.
19. Hotta K., Funahashi T., Arita Y. et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2000. Vol. 20. P. 1595–1599.
20. International Diabetes Federation: The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. 2005. http://www.idf.org/webdata/docs/Metabolic_syndrome_definition.pdf.

21. Lau D. C. W., Dhillon B., Yan H. et al. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005. Vol. 288. P. H2031–H2041.
22. Lewis G. F., Carpentier A., Adeli K., Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes // *Endocrine Rev.* 2002. Vol. 23. P. 201–229.
23. Matsubara C., Nishikawa Y., Yoshida Y. and Takamura K. A. Spectrophotometric method for the determination of free fatty acid in serum using acyl-coenzyme A synthetase and acyl-coenzyme A oxidase // *Anal. Biochem.* 1983. Vol. 130. P. 128–133.
24. Nakashima R., Kamei N., Yamane K. et al. Decreased total and high molecular weight adiponectin are independent risk factors for the development of type 2 diabetes in japanese-americans // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006. Vol. 91. P. 3873–3877.
25. Paolisso G., Tataranni P. A., Foley J. E. et al. A high concentration of fasting plasma non-esterified fatty acids is a risk factor for the development of NIDDM // *Diabetologia.* 1995. Vol. 38. P. 1213–1217.
26. Salas-Salvado J., Granada M., Bullo M. et al. Plasma adiponectin distribution in a Mediterranean population and its association with cardiovascular risk factors and metabolic syndrome // *Metabolism.* 2007. Vol. 56. P. 1486–1492.
27. Silha J. V., Krsek M., Skrha J. V. et al. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance // *Eur. J. Endocrinol.* 2003. Vol. 149. P. 331–335.
28. Tschratter O., Fritsche A., Thamer C. et al. Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism // *Diabetes.* 2003. Vol. 52. P. 239–243.
29. World Health Organization Report. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. WHO, Geneva, 1999.
30. Yamauchi T., Kamon J., Waki H. et al. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and apoE-deficient mice from atherosclerosis // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. P. 2461–2468.

Представлена академиком РАМН В. А. Нагорневым

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ВРАЧЕЙ-ТЕРАПЕВТОВ В СПБМАПО

ГОНЧАР Н. Т., член-корреспондент РАМН МАЗУРОВ В. И.,
СТОЛОВ С. В., ХУРЦИЛАВА О. Г., член-корреспондент РАМН ЩЕРБО А. П.
ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»,
Санкт-Петербург

Гончар Н. Т., Мазуров В. И., Столов С. В., Хурцилава О. Г., Щербо А. П. Методологические аспекты последипломного образования врачей-терапевтов в СПбМАПО // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 3. С. 103–109. ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Санкт-Петербург, 193015, ул. Кирочная, 41.

В статье отражены методологические аспекты последипломного образования в СПбМАПО. Указываются проблемы организации и реализации подготовки врачей-терапевтов в настоящее время и перспективы развития.

Ключевые слова: последипломное образование.

Gonchar N. T., Mazurov V. I., Stolov S. V., Khurtsilava O. G., Shcherbo A. P. Methodological aspects postgraduate education therapist in St. Petersburg Medical Academy of Postgraduate Education // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 3. P. 103–109. Medical Academy of Postgraduate Education, St. Petersburg, 193015.

The article describes methodological aspects of development of continuing medical education in St. Petersburg Medical Academy for Postgraduate Studies, Russia. Problems of training organization and conducting are described as possible ways of development.

Key words: postgraduate education.

Одной из основных задач приоритетного национального проекта в сфере здравоохранения является повышение качества медицинской помощи. В связи с этим значительно возрастают требования к уровню профессиональной квалификации врачей и соответственно к их последипломному образованию [4].

Основным принципом медицинского последипломного образования является непрерывность обучения, реализация которого позволяет врачу поддерживать высокий уровень профессиональной компетенции, а пациенту получать медицинскую помощь надлежащего качества [2].

Дополнительное профессиональное образование врачей приобрело особую актуальность в связи с введением в практику здравоохранения процедур лицензирования и сертификации. В результате, закрепленная в законодательстве возможность повышать квалификацию не реже одного раза в 5 лет стала для врача необходимым и обязательным условием его дальнейшей профессиональной деятельности. Поэтому если раньше периодическое обучение было обязательно только для тех врачей, которые хотели получить или подтвердить квалификационную категорию, то в настоящее время оно стало обязательным для всех без исключения. Это принципиально важное обстоятельство привело к значительному росту потребности врачей в последипломном образовании [1, 3].

В России последипломная подготовка специалистов здравоохранения проводится в 4 академиях, 3 институтах дополнительного профессионального образования (повышения квалификации) и на 47 факультетах при образовательных учреждениях высшего профессионального образования Минздравсоцразвития РФ и других ведомств. Координацию послевузовского и дополнительного профессионального медицинского обучения в Северо-Западном федеральном округе, согласно приказу Минздрава РФ № 436 от 13 декабря 2001 г., осуществляет СПбМАПО.

Одной из главных задач системы дополнительного профессионального образования является удовлетворение потребности практического здравоохранения в повышении квалификации кадров [6]. В 2007 г. этой системой в СЗФО было охвачено почти 48 000 специалистов здравоохранения, из них 64% подготовлено в СПбМАПО. Динамика подготовки и переподготовки кадров здравоохранения в СПбМАПО представлена в виде диаграмм (рис.), из данных которых видно, что за последние пять лет в академии прошли повышение квалификации до 70% врачей, работающих в учреждениях здравоохранения Северо-Запада России.

С целью совершенствования деятельности академии по координации подготовки и переподготовки врачей был изучен весь контингент, повышающий квалификацию по длительным и краткосрочным формам обучения (табл. 1).

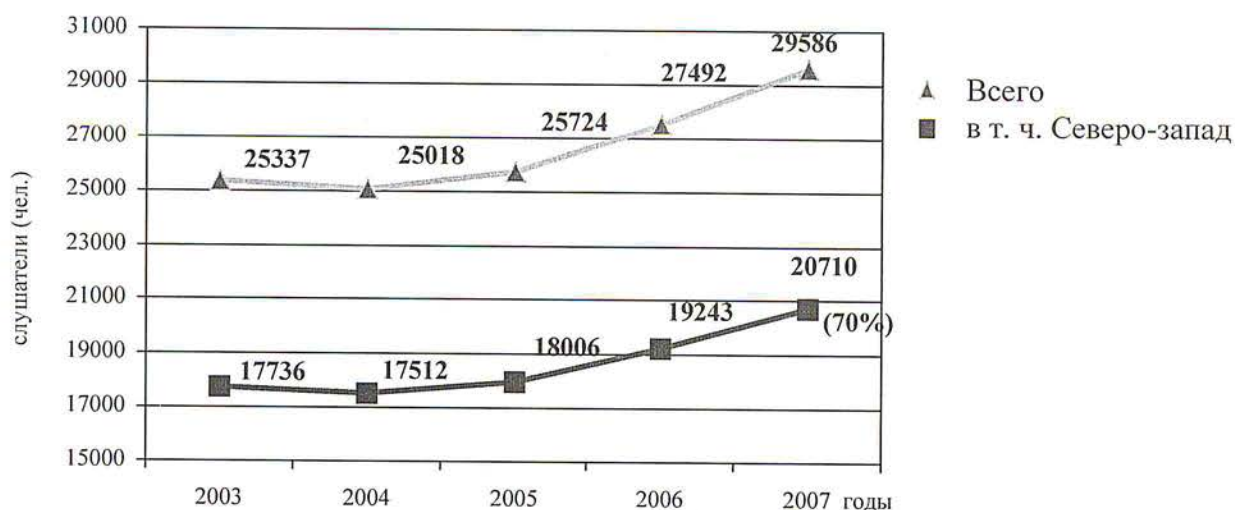


Рис. Динамика количества специалистов, обученных в СПбМАПО (2003–2007 гг.)

Таблица 1

Состав слушателей СПбМАПО

Профиль медицинской деятельности	Доля от общего количества слушателей, %
Терапевтический	22,1
Хирургический	12,3
Педиатрический	4,6
Психиатрический	3,0
Другие клинические специальности	22,4
Лабораторно-диагностический	8,7
Санитарно-эпидемиологический	4,8
Стоматологический	4,4
Организационный	3,2
Фармацевтический	6,0
Преподаватели	2,1

Как видно из таблицы, первое место по удельному весу (22,1%) занимают врачи терапевтического профиля. Они представляют самую массовую группу в системе первичной медико-санитарной помощи страны (40 тыс. специалистов), кроме того, в поликлиниках и больницах работают еще свыше 120 тыс. врачей терапевтического профиля. В СПбМАПО в составе терапевтического факультета 7 кафедральных коллективов осуществляют последипломную подготовку врачей этой обширной группы. Свыше 80% преподавателей этих кафедр имеют ученую степень доктора или кандидата медицинских наук. Последипломное обучение на терапевтических кафедрах организуется в двух направлениях: послевузовское образование (в интернатуре и клинической ордина-

туре) и дополнительное профессиональное образование (повышение квалификации и профессиональная переподготовка).

Целью интернатуры по терапии является подготовка выпускника медицинского вуза для самостоятельного оказания квалифицированной медицинской помощи в сфере внутренних болезней [2, 4]. В этой связи одной из важнейших задач обучения является дальнейшее углубление теоретических знаний по внутренним болезням, приобретение навыков, необходимых в практической работе. Обязательный перечень теоретических знаний, навыков и умений, подлежащих освоению врачами-терапевтами, определен Типовым учебным планом интернатуры по специальности «Терапия». (Москва, ВНУМЦ, 1999).

В результате реализации приоритетного национального проекта «Здоровье» в лечебно-профилактических учреждениях значительно расширились возможности в диагностике заболеваний и лечении пациентов. На основании опыта работы преподавателей кафедры терапии № 1 им. Э. Э. Эйхвальда, а также кафедры терапии и клинической фармакологии в обязательный объем подготовки терапевтов включены дополнительные теоретические разделы и практические навыки, которыми должен овладеть врач-интерн (табл. 2).

Формирование системных знаний и практических навыков врачей терапевтического профиля проводится в четыре этапа.

На первом этапе вниманию терапевтов-интернов предлагается список литературы, рекомендуемый для самостоятельного изучения в течение всего периода обучения. Тематика литературы должна соответствовать учебному плану (табл. 3).

Таблица 2

Перечень практических навыков,
которые должны быть освоены в интернатуре

Навыки	Количество манипуляций	Степень освоения**
Снятие и расшифровка ЭКГ	50	3
Нагрузочные пробы (велозргометрия, тредмил)*	10	3
Мониторирование ЭКГ и АД *	10	3
Исследование функции внешнего дыхания (спирография)*	5	3
Плевральная пункция	5	3
Стернальная пункция *	5	2–3
Лапароцентез *	5	2–3
Венепункция	20	3
Внутривенное вливание лекарственных средств	20	3
Определение группы крови	10	
Переливание крови и препаратов крови	10	3
Зондирование и промывание желудка	5	3
Катетеризация мочевого пузыря (мягким катетером)	5	3
Пальцевое исследование прямой кишки	10	3

Примечание. * – дополнительные к обязательному перечню мануальные навыки, подлежащие освоению врачами-интернами; ** – степень освоения: 1 – ознакомление, 2 – ассистирование, 3 – самостоятельное выполнение.

На втором этапе преподавания кафедрами организуются тематические семинары с целью углубления и контроля полученных знаний.

Третий этап обучения посвящен отработке отдельных практических навыков на фантомах, на волонтерах, затем на пациентах в условиях клиники, совместно с преподавателем, в группах обучаемых из 5–6 человек.

Отработка навыков и умений проводится как с использованием сложной техники, приборов, так и без них. Обязательным условием при освоении мануальных навыков должны быть демонстрация методик, затем ассистирование преподавателям. Самостоятельное выполнение манипуляций осуществляется под контролем преподавателя в течение всего периода обучения.

На четвертом этапе под контролем преподавателей проводится закрепление полученных теоретических знаний и практических навыков у терапевтов-интернов с выставлением индивидуальной оценки за каждое задание.

Методы контроля знаний и умений различны и применяются в течение всего периода обучения.

Таблица 3

Учебный план освоения практических навыков
врачами-интернами (11 мес)

Наименование разделов	Количество учебных часов		
	Семинары	Самостоятельная работа	Всего
1. Электрокардиография	6	10	16
2. Ишемические нагрузочные тесты	2	4	6
3. Мониторирование ЭКГ по Холтеру	2	4	6
4. Спирография	4	6	10
5. Венепункция	4	10	14
6. Внутривенные вливания лекарственных средств	2	8	10
7. Определение группы крови	6	8	14
8. Переливание крови	4	10	14
9. Плевральная пункция	6	8	14
10. Стернальная пункция	6	8	14
11. Лапароцентез	6	8	14
12. Зондирование и промывание желудка через нос	2	6	8
13. Катетеризация мочевого пузыря (мягким катетером)	2	6	8
14. Пальцевое исследование прямой кишки	2	8	10
Заключительный экзамен			4
ВСЕГО	54	104	162

Важной формой организации учебы и контроля является ведение интернами дневников, в которых отражается количество самостоятельно выполненных процедур. По мере освоения практических навыков проводится индивидуальное тестирование с отражением их результатов в тест-листе (табл. 4).

Заключительный экзамен проводится с целью итоговой оценки знаний и навыков терапевтов. Примерный перечень экзаменационных тестов и ситуационных задач доступен для ознакомления обучаемых в течение всего периода подготовки на терапевтических кафедрах.

Подготовка врачей-терапевтов в клинической ординатуре определена «Положением о клинической ординатуре», в котором отмечено, что «основной задачей обучения врачей в клинической ординатуре является подготовка высококвалифицированных специалистов для самостоятельной работы в органах и учреждениях здравоохранения или в порядке частной инициативы» [2, 4]. Типовой учебный план и образовательная программа клинических ординаторов по специальности «Терапия» представлены в приложении № 2 к приказу МЗ РФ № 33 от 16.02.1995 г. Методология обучения клинических ординаторов и интернов имеет некоторые

Тестирование практических навыков
(на примере кафедры терапии № 1 им. Э. Э. Эйхвальда СПбМАПО)

Дата «___» _____ Преподаватель _____

Врач-интерн _____

Наименование	Степень освоения		Зачет	Подпись преподавателя
	полная	неполная		
Снятие и расшифровка ЭКГ	полная	неполная		
Спирография	полная	неполная		
Плевральная пункция	полная	неполная		
Венепункция	полная	неполная		
Внутривенное вливание лекарственных средств	полная	неполная		
Определение группы крови	полная	неполная		
Переливание крови и препаратов крови	полная	неполная		
Зондирование и промывание желудка	полная	неполная		
Катетеризация мочевого пузыря	полная	неполная		
Пальцевое исследование прямой кишки	полная	неполная		

Подпись врача-интерна: с результатом тестирования согласен _____

различия, поскольку в процессе последующей производственной деятельности они решают разные задачи.

Для пополнения теоретических знаний ординаторам рекомендуется более обширный список литературы: руководства по терапии, монографии по отдельным темам, учебные пособия, инструкции по эксплуатации техники и приборов, раздаточные материалы, банк ситуационных задач, доступ в интернет-сеть и предлагается к освоению более обширный перечень практических навыков (табл. 5).

Обучение практическим навыкам начинается с 4-го мес клинической ординатуры, по окончании основной теоретической (самостоятельной и лекционной) подготовки. Получение и отработка методов исследования, мануальных навыков осуществляется до окончания периода обучения. Закрепление навыков проводится непосредственно на пациентах клиники совместно с преподавателем кафедры или врачом терапевтического отделения. Оценка базисного уровня владения практическими навыками проводится в начале обучения в ординатуре, а затем перед выполнением каждого практического задания. Используются тестовые задания, по 2–4 на одного обучающегося (табл. 6).

Применяются тесты как открытого типа, так и множественного выбора. Обязателен анализ допущенных при тестировании ошибок. Форма самостоятельной работы ординатора возможна на втором году обучения и только в отношении неинвазивных методов исследования. Заключительный экзамен

проводится с целью итоговой оценки знаний и навыков ординаторов после всего периода обучения. При освоении образовательно-профессиональной программы в полном объеме уровень подготовки у

Таблица 5

Перечень практических навыков, которыми должен овладеть ординатор к окончанию учебы в ординатуре

Навыки	Степень освоения	Количество процедур
Снятие и расшифровка ЭКГ	3	30+150
Исследование функции внешнего дыхания (спирография)	2	20
Проведение нагрузочных проб	1	20
Мониторирование ЭКГ	1	20
Стерильная пункция	2	5
Плевральная пункция	2	5
Пункция перикарда	2	3
Парацентез	2	3
Венепункция	3	30
Внутривенные вливания	3	30
Переливание крови и препаратов крови	3	20
Определение групп крови	2–3	10
Зондирование и промывание желудка	2	10
Дуоденальное зондирование	2	10
Пальцевые исследования прямой кишки	3	20
Катетеризация мочевого пузыря (мягким катетером)	3	10
Сигмоидоскопия	2	10

**Тестирование практических навыков
(на примере кафедры терапии № 1 им. Э. Э. Эйхвальда СПбМАПО)**

Дата « ___ » _____ Преподаватель _____

Клинический ординатор _____

Манипуляция	Средний балл	Подпись преподавателя
ЭКГ	4,5	
Ишемический тест	—	
Мониторирование ЭКГ	4	
Спирография	3,5	
Плевральная пункция	4	
Абдоминальная пункция	—	
Пункция перикарда	—	
Стернальная пункция	—	
Венепункция	5	
Внутривенные вливания	5	
Переливание крови и ее препаратов	5	
Определение группы крови	5	
Зондирование и промывание желудка	—	
Пальцевые исследования прямой кишки	3	
Катетеризация мочевого пузыря (мягким катетером)	—	
Сигмоидоскопия	—	

Подпись кл. ординатора: с результатом тестирования согласен _____

терапевтов, закончивших ординатуру, должен соответствовать требованиям квалификационной характеристики специалиста 2-й категории.

Дополнительное профессиональное образование врачей-терапевтов организуется на циклах общего и тематического усовершенствования по утвержденным учебно-производственным программам. Традиционно слушателям во время обучения на циклах читаются лекции, проводятся семинарные занятия, клинические обходы с заведующим кафедрой, еженедельные клинические разборы наиболее сложных случаев диагностики и лечения пациентов. В программу практических занятий включаются дополнительные вопросы по демонстрации, ассистированию и овладению медицинской техникой, приборами, инструментами. В целях повышения профессиональной компетенции врачей-терапевтов приглашаются преподаватели смежных кафедр, которые читают курсы лекций и проводят семинары по актуальным вопросам неврологии, психотерапии, инфекционных болезней и др. Особое внимание кафедральные коллективы уделяют качеству подготовки терапевтов. Использование тестовых программ позволяет оценить знания и практические навыки слушателей и выявить разделы терапии, по которым уровень их профессиональной компетенции недостаточен.

Методология тестового контроля включает обязательный структурный входной (базовый) тест-контроль в компьютерном классе. Например, цикл тематического усовершенствования «Общая терапия» состоит из разделов по кардиологии, гастроэнтерологии, пульмонологии, гематологии и др. В соответствии с ними и формируется тестовая программа емкостью до 250 вопросов. В период подготовки к заключительному экзамену слушателям не выдаются тестовые вопросы, однако в ходе всего цикла обучения большинство из них освещается преподавателями. Динамика входного (базисного) и заключительного тестирования представлена в табл. 7.

Таблица 7

Динамика базисного и итогового тестирования слушателей
кафедры терапии № 1 им. Э. Э. Эйхвальда

Год	Доля правильных ответов при базисном контроле, %	Доля правильных ответов при заключительном контроле, %
2005	53	91
2006	56	90
2007	57	87

Как показывает анализ, доля правильных ответов при базисном контроле достигает 48–57%, а по разделам гематология, кардиология – менее 30%. По итогам заключительного контроля 87–91% слушателей дают правильные ответы на тесты, что подтверждает эффективность применяемых на кафедре методик обучения специалистов терапевтического профиля. Наиболее высокий процент освоения знаний и практических навыков показывают врачи со стажем работы от 3 до 15 лет. Важным фактором эффективности контроля является периодическая корректировка тестовых заданий.

Вместе с тем программы послевузовской подготовки и повышения квалификации терапевтов слабо учитывали особенности их работы в амбулаторных условиях. В этой связи в последние годы было начато создание учебных кабинетов и отделений, поэтапное изменение методологии обучения врачей первичной помощи. Первым в СПбМАПО было открыто учебное отделение (затем центр) на базе кафедры семейной медицины (зав. каф. проф. О. Ю. Кузнецова). Работа по реализации национального проекта «Здоровье» в значительной мере способствовала созданию кафедры амбулаторной медицины (зав. каф. проф. Е. Ф. Онищенко), призванной оптимизировать подготовку участковых терапевтов, интернов и клинических ординаторов в первую очередь для первичного звена здравоохранения.

В настоящее время коллективы терапевтических кафедр при подготовке участковых терапевтов учитывают ряд особенностей, связанных с преодолением общественного мнения о малозначимости фигуры врача амбулаторного звена. Недооценка роли врача первичного звена здравоохранения присуща как самим врачам, так и подавляющему большинству выпускников медицинских вузов. Поэтому стала очевидной необходимость позитивной пропаганды деятельности врача амбулаторного звена в системе последипломного образования. Для врачей-слушателей, повышающих квалификацию, важное значение в улучшении оценки роли их ежедневной работы имеет поддержка профессорско-преподавательского состава кафедр. Методология обучения участковых врачей-терапевтов определяется своеобразием их работы, поскольку догоспитальный этап диагностики характеризуется ограниченным временем работы с пациентом по сравнению с больничными условиями и необходимостью полагаться, в основном, на средства и методы оперативной диагностики.

При этом подразумевается, что диагноз должен быть настолько верным, чтобы обеспечить эффективное лечение или правильный алгоритм дальнейшей диагностики. В связи с этим на кафедрах разработан синдромальный подход в преподавании

для этой категории терапевтов, предполагающий алгоритмизацию диагностического процесса, например «Электрокардиологическая синдромология в терапевтической практике». Методологически важным признано обучение врачей правильной интерпретации инструментальных синдромокомплексов с позиций их сопоставления с клинической картиной заболевания. На практических занятиях подчеркивается необходимость внимательного отношения к заключениям специалистов вспомогательных служб. Прилагается немало усилий для формирования грамотного, ответственного и самостоятельного стиля работы врача-терапевта.

При обучении участковых врачей-терапевтов в учебно-тематический план включены вопросы организации ПМСП, диспансеризации, дополнительного лекарственного обеспечения отдельных категорий граждан и др. Организация рабочего места участкового врача-терапевта подразумевает широкое внедрение современных оперативных диагностических технологий, методов и аппаратуры: пульс-оксиметров, портативных глюкометров, тест-полосок и диагностических приборов – в дополнение к традиционным фонендоскопу и тонометру. Кроме того, в учебно-клиническом центре № 2 СПбМАПО обучающий кабинет терапевтического приема оснащен дополнительным рабочим местом для врача-слушателя. Расширение арсенала средств диагностики на рабочем месте придает врачу уверенность в своей работе, а пациент испытывает доверие к нему. При обучении участковых терапевтов кафедры СПбМАПО исходят из того, что в перспективе должно происходить все большее сближение стиля работы врача-терапевта и врача общей (семейной) практики.

Различия в объемах их реальной деятельности могут диктоваться исключительно соображениями производственной необходимости и целесообразности, а также удобством для наблюдаемого населения.

Таким образом, в СПбМАПО в последние годы актуальные аспекты методологии последипломного образования врачей-терапевтов эффективно реализуются созданием современных условий для приобретения ими теоретических знаний и мануальных навыков, необходимых для успешной работы в практическом здравоохранении.

ВЫВОДЫ

Система последипломного обучения врачей-терапевтов неразрывно связывает методологию теоретической подготовки с освоением ими практических навыков под контролем преподавателей кафедр, что является определяющим фактором формирования у

врача профессиональной компетенции, соответствующей квалификационным требованиям.

Для успешного освоения мануальных навыков и умений необходима корректировка образовательных программ, оснащение рабочих мест преподавателей и слушателей современными средствами обучения, что возможно в специально созданных учебно-клинических подразделениях.

Организация обучения участковых врачей-терапевтов (амбулаторного звена) имеет существенные особенности по сравнению с подготовкой терапевтов для стационара и должна проводиться в условиях, максимально приближенных к их практической работе, что повышает качество подготовки.

Оценка и контроль подготовки специалистов необходимы в течение всего периода обучения в виде базового, текущего и итогового тестирования, а по завершении периода обучения — заключительного экзамена. Методология экзамена должна быть направлена на оценку уровня полученных теоретических знаний и владения определенными практическими навыками.

Литература

1. *Вартанян Ф. Е., Ромецкая С. В.* Современные подходы в подготовке медицинских кадров // *Здравоохранение*. 2007. № 8. С. 165–170.
2. *Медицинское последипломное образование. Система образования и подготовка преподавателей / Под ред. Н. А. Белякова и А. П. Щербо.* СПб.: СПбМАПО, 2002. Т. 1. 480 с.
3. *Медицинское последипломное образование. Управление и экономика / Под ред. Н. А. Белякова и С. Л. Плавинского.* СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2006. Т. 2. 432 с.
4. *Медицинское последипломное образование. Преподавание практических навыков и подготовка амбулаторных врачей / Под ред. Н. А. Белякова и О. Ю. Кузнецовой.* СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2006. Т. 3. 360 с.
5. *Пальцев М. А., Денисов И. Н., Чекнев Б. М.* Высшая медицинская школа России и Болонский процесс. Выпуск II. М., 2005. 250 с.
6. *Юргель Н. В., Хубиева М. Ю.* Изучение образовательных потребностей медицинских работников в условиях модернизации первичного звена здравоохранения // *Здравоохранение*. 2007. № 11. С. 153–157.

**РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РАДИОЛОГИИ
И ХИРУРГИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ РФ:
ИСТОРИЯ, ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ, ПЕРСПЕКТИВЫ
(к 90-летию со дня основания)**

*Академик РАМН ГРАНОВ А. М., ТЮТИН Л. А., СТАНЖЕВСКАЯ Т. И., БЕССОНОВ Н. Н.
ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
Министерства здравоохранения и социального развития РФ»,
Санкт-Петербург*



В сентябре 2008 г. исполняется 90 лет Государственному рентгенологическому и радиологическому институту – первому в мире учреждению такого профиля. Основателями института были ученик В. К. Рентгена академик АН СССР А. Ф. Иоффе и профессор М. И. Неменов. Идея создания в Петрограде Рентгенологического института возникла у М. И. Неменова еще в 1910 г., однако реализовать ее удалось только в 1918 г. благодаря фантастической энергии М. И. Неменова и активной поддержке наркома просвещения А. В. Луначарского. Организация этого уникального учреждения в годы гражданской войны в разрушенной голодающей стране получила восторженные отклики зарубежной научной общественности. Первооткрыватель X-лучей В. К. Рентген в сентябре 1920 г. писал М. И. Неменову: «... как величественно запланирован и осуществлен Ваш институт; я этим поражен и очень обрадован, что Вам удалось в тяжелейших условиях привести к счастливому концу такое огромное предприятие!».

Первым избранным президентом Института стал академик А. Ф. Иоффе и почти одновременно на должность директора был назначен профессор М. И. Неменов, который возглавлял это учреждение в течение 30 лет. Сразу после организации Институт состоял из трех больших отделов: медико-биологического (рук. – М. И. Неменов), физико-технического (рук. – А. Ф. Иоффе) и радиевого (рук. – Л. С. Колловрат-Червинский). Эта структура соответствовала основным направлениям деятельности учреждения и сохранялась с некоторыми и существенными изменениями в течение многих лет.

В марте 1921 г. в результате развития Института были выделены и организованы несколько самостоятельных учреждений. В настоящее время они представляют собой крупнейшие научно-исследовательские центры: это Российский научный центр радиологии и хирургических технологий Министерства здравоохранения и социального развития РФ, как

продолжение нашего родоначального Государственного рентгенологического и радиологического института (впоследствии и ракового), затем Центрального научно-исследовательского рентгенорадиологического института, а также Физико-технический институт имени академика АН СССР А. Ф. Иоффе и Радиевый институт имени академика АН СССР В. Г. Хлопина.

Несмотря на большие трудности, М. И. Неменову уже в первые годы работы Института удалось привлечь к сотрудничеству и непосредственной работе выдающихся ученых своего времени: профессоров Н. Я. Чистовича, В. А. Оппеля, П. В. Троицкого, В. А. Шаака, Н. Н. Петрова, Г. В. Шора, Н. Н. Аничкова, А. А. Заварзина, Л. М. Шабада, Г. В. Ясвоина, В. И. Вернадского, Е. С. Лондона, Г. А. Надсона; в 1918–1820 гг. в институте начинал свою научную карьеру будущий лауреат Нобелевской премии по физике (1978) профессор П. Л. Капица. Дважды лауреат Нобелевской премии (в области физики и химии) Мария Складовская-Кюри, основатель Института радия в Париже, высылала в институт препараты радия с сертификатами за своей подписью.

С первых дней Институт стал центром научной мысли в области рентгенологии, радиологии, радиобиологии и экспериментальной онкологии не только в СССР, но и за рубежом. На его базе было создано рентгенорадиологическое общество, а учрежденный М. И. Неменовым журнал «Вестник рентгенологии и радиологии» стал международным и выпускался на трех языках: английском, немецком и французском.

Центральное место в деятельности Института с первых лет существования занимали фундаментальные исследования. Именно в его стенах был открыт мутагенный эффект радиации (Г. С. Филиппов, Г. А. Надсон, 1925) и заложены основы радиационной генетики. В последующие годы научные разработки, проводимые в Институте, легли в основу многих областей радиобиологии: радиационной мик-



Профессор М. И. Неменов



Академик А. Ф. Иоффе

радиологии и иммунологии, биохимии, экспериментальной онкологии и морфологии, гематологии и др. Одним из первых научных подразделений, образованных в Институте, была патологоанатомическая и раковая лаборатория (зав. – проф. Г. В. Шор). В этой лаборатории были заложены основы отечественной экспериментальной онкологии, изучалась проблема этиологии злокачественных новообразований, морфология и гистогенез экспериментальных опухолей, канцерогенное действие факторов окружающей среды.

Изначально новое учреждение было задумано как научно-исследовательский институт, изучающий действие рентгеновых лучей и радия на человека, животных и растения. Для решения этих фундаментальных проблем в 1926 г. в Институте появились: лаборатория экспериментальной биологии и гистологии (зав. – проф. А. А. Заварзин), бактериологическая и серологическая лаборатории (зав. – проф. Б. П. Эберт и С. И. Златогоров), биохимическая лаборатория (зав. – проф. Е. С. Лондон). В бактерио-серологической лаборатории изучалось действие радиации на иммунную систему организма, на бактерии и бактериофаги, патогенез общей ранней реакции организма на воздействие лучистой энергии. Эти исследования получили дальнейшее развитие в работах Л. Г. Перетца, В. М. Аристовского, П. Н. Киселева и его сотрудников.

Всестороннее исследование действия радиации на различных уровнях организации проводилось, начиная с 1928 г., в отделе экспериментальной морфологии (зав. – проф. А. А. Заварзин). В этой лаборатории в течение нескольких десятилетий на различных биологических моделях изучались общие закономерности действия радиации. С 1942 г. эту лабораторию возглавлял член-корреспондент АМН СССР, профессор Г. С. Стрелин, который создал научную школу

радиобиологов (профессора Л. А. Кашенко, А. К. Рябуха, д. б. н. И. Б. Бычкова и др.).

Трудами академика Е. С. Лондона с сотрудниками было создано новое направление – радиационная биохимия. В лаборатории радиационной биохимии, возглавляемой профессором Н. Н. Блохиным, а с 1949 г. – профессором С. Е. Манойловым, основные усилия научного коллектива были направлены на нуклеопротеидный, белковый и углеводный обмен, обмен хромопротеидов, кислотно-щелочное равновесие.

В 80-е гг. в Институте сформировалась новая область исследований – молекулярная радиобиология, в которой на протяжении ряда лет проводились работы, направленные на выяснение механизмов радиационной гибели клеток (К. П. Хансон, Б. Д. Животовский, В. И. Евтушенко, В. Е. Комар, А. А. Валькович, Н. В. Звонарева и др.). По результатам выполненных здесь многолетних исследований в 1987 г. коллектив авторов в составе: профессор Е. А. Жербин, член-корреспондент РАМН, профессор К. П. Хансон, д. б. н. Б. Д. Животовский – был удостоен звания лауреата Государственной премии СССР в области науки и техники за разработку теоретических основ радиационной гибели лимфоидных клеток, их использование для выяснения патогенеза лучевой болезни.

В отделе патологической анатомии, наряду с выполнением задач, связанных с клиникой Института, изучался лучевой патоморфоз заболеваний различной этиологии (профессора М. А. Захарьевская, В. Г. Гаршин, Л. В. Фунштейн, д. м. н. А. В. Губарева, д. м. н. Э. И. Щербань, Н. Д. Грачева, А. Б. Маркочев и др.). В. Г. Гаршиным с сотрудниками был создан уникальный патологоанатомический музей, который реставрирован и функционирует в настоящее время.

В связи с новыми задачами по использованию атомной энергии в мирных целях, начиная с 1950 г., по заданию Министерства здравоохранения СССР, научная тематика Института была сконцентрирована на решении двух проблем: первая – применение радиоактивных изотопов и других источников ионизирующих излучений для терапевтических целей и вторая – изучение патогенеза и клиники лучевой болезни, а также разработка способов ее профилактики и лечения.

Для решения этих задач были созданы новые подразделения: лаборатория радиационной фармакологии (1957, рук. – проф. А. М. Русанов) и отделение лучевой патологии (1963, рук. – проф. Е. И. Воробьев, проф. В. В. Холин). В этот период были разработаны и внедрены в практику новые радиозащитные, радиосенсибилизирующие и противоопухолевые препараты (проксифеин, ксантобин, этаден и др.). В 1957 г. организована лаборатория радиационной генетики и отдаленных последствий лучевого воздействия. Ее руководитель профессор С. Н. Александров и сотрудники теоретически разработали и экспериментально подтвердили схему патогенеза отдаленной лучевой патологии. Были установлены неполноценность потомства облученных родителей и увеличение у них риска канцерогенеза (И. Е. Воробцова, Э. М. Китаев, А. А. Величко). В исследованиях широко использовались биохимические, цитологические и биофизические методы (В. А. Волчков, В. Ф. Дубровская, Г. В. Фарафонов, Т. К. Яковлева, А. С. Ягунов).

Одним из плодотворных направлений исследований оказался поиск методов повышения эффективности лучевой терапии, на базе существовавшего в Институте более 40 лет отделения патологической физиологии, организатором и руководителем которого был известный физиолог профессор П. С. Купалов. В этом подразделении велись исследования действия радиации на функции нервной системы, метаболизм тканей, гуморальную регуляцию, патогенез лучевой болезни, реактивность облученного организма в условиях функциональных нагрузок (проф. Р. И. Гаврилов). С 80-х гг. изучались процессы метаболического обеспечения опухолевого роста и использование радиобиологических особенностей их для обоснования выбора наиболее эффективного терапевтического применения ионизирующей радиации (проф. А. Н. Шутко с сотр.).

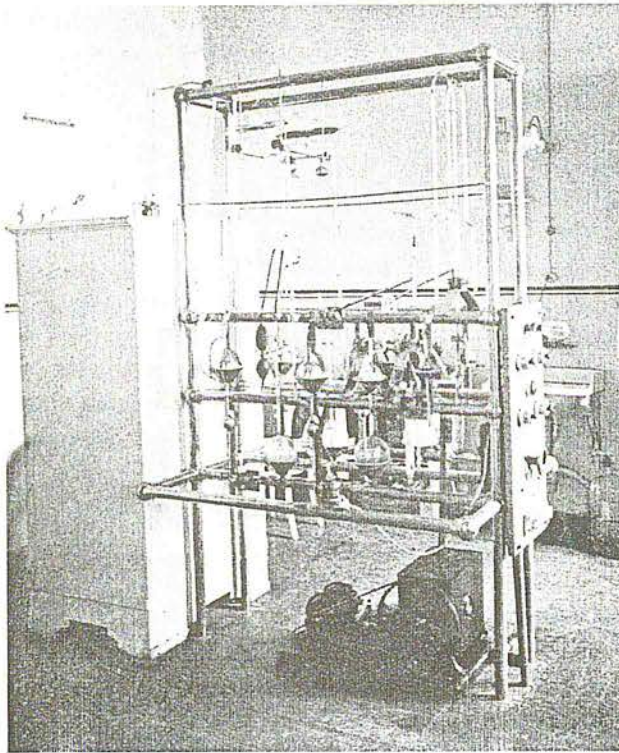
Теоретические научные разработки, проводимые в Институте с момента его основания, были необходимы для обоснования клинического применения ионизирующей радиации для лечения заболеваний различной этиологии, в основном опухолевой природы.

Особую роль в достижениях клиник Института в области лучевой терапии сыграли работы физико-технического отдела. Именно в стенах вновь созданного Института А. И. Тхоржевским были сформулированы теоретические основы рентгентехники как самостоятельной дисциплины с собственными задачами. В 1924 г. была создана физическая и радоновая лаборатория (зав. – П. И. Лукирский), где проводились исследования, направленные на разработку конструкций источников излучения и дозиметрию радиоактивных веществ, а также мероприятий по радиационной защите. После многочисленных структурных изменений лаборатория была преобразована в отдел медицинской радиационной физики, где в течение многих лет проводились испытания новой облучательной техники, практически всех отечественных линейных ускорителей. Здесь проведены физико-технические исследования по созданию новой дозиметрической аппаратуры, диагностической и облучательной техники, а также в области клинической дозиметрии. В 1988 г. сотрудникам Института: д. т. н. И. А. Ермакову, Р. В. Сеницыну, к. т. н. О. А. Штуковскому, д. м. н. Л. П. Симбирцевой – была присуждена Премия Совета Министров СССР в области науки и техники за разработку и внедрение в ведущих клиниках страны линейных ускорителей электронов для лучевой терапии.

С первых лет существования в Институте велась успешная работа в области клинического использования радиации для лечения опухолевых и неопухолевых заболеваний. Уже через 10 лет со дня его основания в медицинскую практику были внедрены разработки по применению различных радиоактивных веществ в онкологической клинике (терапия радием, радоном, кобальтом, золотом, фосфором и другими изотопами) с лучшими результатами, чем во многих европейских клиниках. В 1930 г. накопленный опыт лучевой терапии был обобщен и представлен в виде фундаментального руководства по терапии радием (проф. Ф. С. Гроссман).

В 50–60-х гг. проводились комплексные исследования, направленные на изучение патогенеза и симптоматики острых и хронических лучевых повреждений. В эти годы разрабатывались различные схемы лучевой терапии онкологических и системных заболеваний, направленные на повышение эффективности лечения и снижение пострadiационных осложнений (профессора Е. И. Воробьев, М. Н. Побединский, С. Н. Александров, А. А. Габелов, А. И. Страшинин, В. В. Холин, А. В. Кантин, Л. В. Фунштейн, П. Н. Киселев, К. П. Хансон, А. М. Русанов, А. К. Рябуха, А. Н. Шутко и др.).

В 1971 г. Институт перебазировался в п. Песочный. Здесь были продолжены работы в направлениях, детерминированных в момент основания



Радоновая лаборатория

Института, и появились принципиально новые разработки. Осуществлена модернизация парка облучательной техники, внедрены в практику линейные ускорители. Разработка новых технологий в отделе радиационной медицинской физики способствовала созданию эффективных методов лучевой и комбинированной терапии различных опухолей (профессора Л. П. Симбирцева, В. Л. Винокуров, В. М. Виноградов, Л. И. Корицова, Н. В. Ильин, Г. М. Жаринов, Б. А. Коннов и др.).

Принципиально новой высокотехнологичной разработкой Института явилось создание медицинского протонного комплекса для лучевой терапии на базе синхроциклотрона ПИЯФ РАН, Гатчина, с энергией 1000 МэВ. Подготовительные работы по созданию этого комплекса начались в медико-биологическом отделе (1966, Гатчина) под руководством д. м. н. А. А. Волкова, в 1973 г. на базе отдела было организовано отделение протонной терапии (рук. — д. м. н., проф. Б. А. Коннов) для лечения больных с артерио-венозными мальформациями головного мозга, опухолями гипофиза, а также как метод выключения гипофиза при раке предстательной и молочной желез поздних стадий. К настоящему времени в этом подразделении Института накоплен уникальный 35-летний опыт лечения этих заболеваний (проф. Б. А. Коннов, д. м. н. А. А. Волков, проф. В. М. Виноградов и др.).

Изучение возможностей повышения эффективности рентгенологических методов применительно

к задачам многопрофильной клиники началось сразу после создания Института. Тогда же были определены приоритетные направления: разработка методов искусственного контрастирования внутренних органов (профессора М. И. Неменов, С. Н. Лисовская, С. А. Рейнберг); исследования в области остеологии, завершившиеся изданием ряда руководств и монографий, получивших мировое признание (профессора Д. Г. Рохлин, С. А. Рейнберг, Г. А. Зедгенидзе).

В 1931 г. масштабы рентгенологических исследований расширились за счет создания рентгеноантропологической и рентгеноанатомической лабораторий (зав. — проф. Д. Г. Рохлин, проф. А. С. Золотухин, а затем проф. М. Г. Привес). Были проведены углубленные исследования по искусственному контрастированию при рентгенологическом исследовании различных органов и систем: пневмоперитонеуму (М. И. Неменов), энцефало- и вентрикулографии (М. И. Неменов, Э. А. Гизе), бронхографии (С. А. Рейнберг), метросальпингографии (С. А. Рейнберг, О. И. Арнштам), холецистографии (Е. Н. Можарова, М. И. Неменов). Большое внимание уделялось изучению рентгеносемиотики заболеваний бронхолегочной и сердечно-сосудистой систем (Р. Я. Гасуль, С. А. Рейнберг, Ю. И. Аркусский).

Следует отметить, что именно в стенах Института были заложены основы рентгеновской томографии: в 1934 г. В. И. Феоктистовым сконструирован первый в Советском Союзе томограф для линейной томографии и проведены диагностические исследования при туберкулезе легких (А. Я. Кацман, В. И. Соболев, С. П. Яншек).

В 1963 г. в Институте организован рентгенодиагностический отдел в составе четырех научных отделений: бронхолегочного, сердечно-сосудистого, желудочно-кишечного и изотопных методов исследования (рук. — проф. К. Б. Тихонов, проф. Е. И. Тюрин). Основными направлениями научно-исследовательских разработок (НИР) в этот период были организация и стандартизация рентгенологических и радиоизотопных методов исследований (профессора К. Б. Тихонов, Е. И. Тюрин, В. С. Пручанский, Е. В. Ловягин и др.), а также начало работы по освоению ангиографии (проф. К. Б. Тихонов и др.). Работы в этом направлении особенно активизировались после создания в 1980 г. отдела рентгенохирургических методов диагностики и лечения (проф. А. М. Гранов), который в настоящее время входит в число ведущих центров интервенционной радиологии. Разработаны и внедрены приоритетные способы лечения хронического гепатита, цирроза, злокачественных опухолей печени и поджелудочной железы, почек, мочевого пузыря и матки (проф. П. Г. Таразов, проф. Д. А. Гранов, д. м. н. В. Н. Анисимов, проф. М. И. Карелин, д. м. н. А. А. Поликарпов и др.).

В 1993 г. за разработку и внедрение в клиническую практику эффективных методов диагностики и лечения новообразований печени А. М. Гранов удостоен звания лауреата Государственной премии РФ. Часть этих методов уникальна и защищена патентами не только России, но и США (А. М. Гранов, В. Н. Деркач, Д. А. Гранов, В. Н. Польшалов).

В 1986 г. отдел рентгенодиагностики был трансформирован в отдел лучевой диагностики (проф. Л. А. Тютин). Началась техническая модернизация, которую в начале 90-х гг. можно было охарактеризовать как технологический прорыв.

Постепенно Институт оснащался оборудованием, позволившим использовать в клинике практически все современные методы лучевой визуализации: магнитно-резонансная томография (МРТ), магнитно-резонансная ангиография (МРА), спектроскопия (МРС), многослойная спиральная компьютерная томография (МСКТ), позитронная эмиссионная томография (ПЭТ), аппаратура для ультразвукового исследования (УЗИ).

Одним из основных направлений деятельности Института в последние годы стала ядерная медицина. В 1976 г. по постановлению Совета Министров СССР в Институте началось создание первого ПЭТ-центра на базе отечественного медицинского циклотронного комплекса – МГЦ-20 (НИИЭФА им. Д. Ефремова), в 1988 г. циклотрон был смонтирован и осуществлен его физический пуск. В 1992 г. началась эксплуатация первой очереди медицинского циклотрона. Ввод в действие медицинского циклотрона стал настоящим прорывом в создании новых технологий ядерной медицины в ЦНИРРИ. В настоящее время на базе РНЦРХТ функционирует циклотронный комплекс многоцелевого назначения, включающий 2 отечественных циклотрона (МГЦ-20 и СС-19), современную радиохимическую лабораторию, блок для автоматического синтеза радиофармпрепаратов (РФП) и ПЭТ-центр, оснащенный двумя современными позитронными эмиссионными томографами. Это создает уникальные возможности для решения фундаментальных и прикладных задач в области онкологии, кардиологии, неврологии, трансплантологии и в других областях медицины. В радиохимической лаборатории налажено производство РФП для радионуклидной диагностики, технологии их синтеза постоянно совершенствуются (к. т. н. О. А. Штуковский, к. х. н. М. И. Мостова и др.). В Центре накоплен обширный опыт применения ПЭТ для диагностики и дифференциальной диагностики онкологических заболеваний, стадирования патологического процесса и прогнозирования и оценки эффективности лечения (проф. Л. А. Тютин, проф. Н. П. Фадеев, д. м. н. Н. А. Костеников, к. м. н.

Д. В. Рыжкова, к. м. н. М. С. Тлостанова, к. м. н. А. А. Станжевский, к. м. н. А. А. Иванова и др.).

Осуществление этого проекта проходило под руководством и при участии директора Института, академика РАМН, профессора А. М. Гранова и заместителя директора по научной работе, заслуженного деятеля науки, профессора Л. А. Тютина.

В 2005 г. коллектив сотрудников ЦНИРРИ: А. М. Гранов, Л. А. Тютин, О. А. Штуковский, М. И. Мостова – был удостоен Премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники за создание и внедрение отечественного комплекса аппаратуры и технологии производства радиофармпрепаратов, меченных ультракороткоживущими радионуклидами для диагностических центров позитронно-эмиссионной томографии.

Следует отметить, что 50% коечного фонда Центра занимают пациенты хирургического профиля. В конце 90-х гг. операционные и отделение реанимации были модернизированы и оснащены самым современным оборудованием. Это позволило расширить объем хирургических вмешательств и выполнять операции высокой степени сложности при заболеваниях печени, желчного пузыря и желчевыводящих путей, поджелудочной железы, урогинекологических заболеваний, сосудов и др., а также успешно осуществлять трансплантацию печени и почек.

Многoletний опыт работы в области хирургической гепатологии и интервенционной радиологии позволил, начиная с 1998 г., развивать в Институте программу по трансплантации печени (А. М. Гранов, Д. А. Гранов, Ф. К. Жеребцов, В. Н. Польшалов, В. В. Осовских, В. В. Боровик и др.). В 2007 г. сотрудники Центра: профессор Д. А. Гранов, к. м. н. Ф. К. Жеребцов, к. м. н. В. В. Осовских – удостоены Премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники за разработку, создание и внедрение методов трансплантации печени у взрослых и детей, как нового направления в российском здравоохранении.

В 80-е гг. прошлого века в Институте стали развиваться исследования в области одного из самых современных и продуктивных направлений в медицине – биотехнологии. Такие разработки начались в лаборатории биотехнологии, организованной в 1983 г. (проф., д. м. н. О. А. Розенберг), и продолжались в одноименном отделе. С 1990 г. ведутся работы по созданию отечественных препаратов природного легочного сурфактанта и способов сурфактант-терапии острой дыхательной недостаточности при критических состояниях и ряде заболеваний легких. В 2000 г. (проф. О. А. Розенберг) налажено производство препаратов сурфактанта, и эти высокоэффективные препараты стали доступными для использо-

вания в лечебных учреждениях здравоохранения России и стран СНГ.

В 1990 г. был создан отдел медицинской биотехнологии, в состав которого вошла лаборатория гибридной технологии (рук. – проф. В. Б. Климович), лаборатория доклинических испытаний биотехнологических продуктов (рук. – д. м. н. В. А. Волчков) и лаборатория генной инженерии (рук. – д. б. н. В. И. Евтушенко), которая в 1997 г. выделилась в самостоятельное структурное подразделение.

В 2002 г. техническая база клинико-диагностической лаборатории Института (рук. – проф. И. В. Овчинников) была значительно модернизирована, что позволило расширить диапазон проводимых исследований и повысить их качество.

В конце того же года состав научно-клинических подразделений Института увеличился за счет лаборатории иммуногистохимии (рук. – проф. К. М. Пожарисский) и лаборатории ядерной кардиологии (рук. – д. м. н. О. Н. Симонова).

О высоком уровне и новизне проводимых в Институте научных разработок свидетельствует высокая изобретательская активность: за последние годы получено 30 патентов.

Сегодня в Центре работают 723 сотрудника, из них 35 докторов наук, 24 профессора, 65 кандидатов наук. За прошедшие 5 лет (с 2003 г.) было защищено 8 докторских и 44 кандидатских диссертаций, Росздравнадзором утверждены 11 новых технологий. Только за последние 3 года издано 7 монографий, книг и учебников.

В настоящее время Центр является крупным мультидисциплинарным научно-исследовательским и медицинским учреждением, располагающим самыми современными техническими и технологическими возможностями для развития приоритетных направлений медицинской науки.

Основное направление научно-исследовательских разработок – создание новых передовых технологий в области радиационной медицины, лучевой диагностики и терапии, интервенционной радиологии, новых диагностических и лекарственных средств на основе биотехнологических методов.

Одним из основных научных направлений Центра является разработка новых технологий диагностики и оценки эффективности лечения онкологических, сердечно-сосудистых и психоневрологических заболеваний на основе использования высокоинформативных современных методов исследования. За последние годы в результате комплексных исследований, проведенных в отделе лучевой диагностики (рук. – заслуженный деятель науки, лауреат премии Правительства России Л. А. Тютин), созданы новые высокоинформативные технологии диагностики ряда онкологических заболеваний: опухолей печени, го-

лового мозга, предстательной железы, мочевого пузыря, почек и др.

На циклотронном комплексе многоцелевого назначения Центра разработаны и внедрены в клиническую практику новые радиофармпрепараты (РФП), созданы технологии производства короткоживущих РФП для ПЭТ; разрабатывается методика получения и контроля качества РФП «Метионин 11С» для диагностики опухолей головного мозга, проводится комплекс медико-биологических исследований с целью Государственной регистрации генераторного РФП «Рубидия хлорида 82 Rb» – диагностического препарата, используемого в кардиологии; создается новая технологическая база для производства препарата «I-123-Метиленовый синий» для диагностики меланомы.

В результате совместной деятельности отдела медицинской радиационной физики (рук. – к. б. н. А. М. Червяков) и медицинской радиологии созданы новые технологии лучевой и комбинированной терапии опухолевых заболеваний. Разработаны и внедрены рациональные схемы ускоренной лучевой терапии, последовательной и одновременной лучевой терапии, в том числе в комбинации с хирургическими вмешательствами. Технологии фотонного и электронного тотального и субтотального облучения (системная лучевая терапия) используются для лечения лимфомы Ходжкина, злокачественных лимфом, рака легкого, предстательной железы и яичников III–IV стадий. Внедрены в клиническую практику новые способы лечения, основанные на рациональной комбинации облучения с включением в схемы факторов усиления (внутриартериальная химиотерапия, гипертермия, селективная гипергликемия, системная и локальная иммунотерапия, клеточная терапия).

Одним из приоритетных направлений является создание новых и усовершенствование существующих технологий стереотаксической лучевой терапии узкими фотонными и протонными пучками. Постоянно совершенствуются методики прецизионной подготовки больных к облучению, с использованием передовых технологий диагностики (МРТ, РКТ, ПЭТ, ангиографии). Одним из перспективных направлений, разрабатываемых в настоящее время в Центре, является создание новых технологий комбинированного лечения опухолей различных локализаций с включением биотерапии, в частности при местнораспространенных и диссеминированных опухолях почки (проф. М. И. Карелин, к. м. н. О. Е. Молчанов).

В отделении интервенционной радиологии (рук. – проф. П. Г. Таразов) наиболее активно разрабатывались проблемы рентгеноэндовазкулярных чрескатетерных и открытых сосудистых вмешательств при очаговых, прежде всего злокачественных, поражен-

ях печени, почки, мочевого пузыря и др. Впервые в мире была разработана и внедрена в клиническую практику комбинированная артерио-портальная жировая химиоэмболизация нерезектабельных опухолей печени, а также получены патенты США на оригинальные методики ферромагнитной эмболизации с последующей высокочастотной гипертермией. Впервые предложена и широко используется масляная химиоэмболизация рака поджелудочной железы.

В клинике Центра продолжают совершенствоваться известные методики интервенционной радиологии, в частности имплантации систем порткатетеров для регулярных циклов химиотерапии, оптимизированы сочетанные методики локального воздействия на опухоль и регионарной химиотерапии и др.

Успешно развиваемая в нашем Центре программа трансплантации печени и сосудистой хирургии позволила внедрить в клинике Центра внутривенный портокавальный шунт (TIPS); стентирование полой вены; использование крытых стентов при поражении аорты и подвздошных артерий, стриктур желчных путей.

Таким образом, на сегодняшний день в РНЦРХТ выполняется широкий диапазон современных интервенционных радиологических процедур, одновременно разрабатываются новые эмболизаты с противоопухолевыми препаратами, планируется использование клеточных технологий и радиофармпрепаратов.

Большой опыт, накопленный за многолетние исследования в области хирургии и интервенционной радиологии, модернизация операционного и реанимационного блоков, высокий кадровый потенциал позволили интенсифицировать разработку новых технологий в области оперативных вмешательств при злокачественных опухолях, пересадке печени, почки и сосудистой патологии.

В Центре с 1998 г. осуществляется программа по трансплантации печени. Центр – единственное на Северо-Западе лечебное учреждение, в котором успешно проводится эта сложнейшая операция. К настоящему времени проведено 45 операций по пересадке печени с непосредственными и отдаленными результатами, соответствующими мировым. Целью трансплантационной программы, осуществляемой в Центре, является не только совершенствование технологии пересадки органов, но и создание организационно-методической базы для оптимизации мероприятий по органному донорству, что имеет решающее значение для ее реализации.

В рамках осуществления трансплантационной программы разрабатывается комплекс лечебно-диагностических мероприятий по сопровождению потенциального реципиента печени и почки в пери-

од ожидания операции и алгоритм сопровождения пациента с пересаженными органами в различные сроки после операции, проводится изучение закономерностей клинко-морфологических изменений пересаженной печени, выявление раннеспецифических факторов, влияющих на результаты пересадки, исследуется динамика иммунологического профиля больных в посттрансплантационный период. В области сосудистой хирургии создаются новые технологии хирургического лечения облитерирующего атеросклероза нижних конечностей на основе изучения функциональных резервов скелетной мускулатуры и анатомических и функциональных особенностей периферического сосудистого русла (к. м. н. Д. Н. Майстренко).

Радиобиологические исследования влияния радиации на различных уровнях организации – традиционное направление в деятельности Центра с момента его организации. В лаборатории методов повышения эффективности лучевой терапии (рук. – проф. А. Н. Шутко) ведутся научные разработки, составляющие круг основных вопросов современной науки, входящих в раздел «Технологии живых систем» в части формирования взаимоотношений организма с опухолью или трансплантатом.

Основное направление – изучение причин высокой вариабельности результатов цитотоксической терапии злокачественных новообразований человека и разработка способов ее преодоления по основному критерию – продолжительности жизни больного.

В деятельности лаборатории используются отечественные и зарубежные регистры по радиационной медицине и онкологии в рамках сотрудничества с научными центрами США, Израиля и РФ.

В Центре на протяжении нескольких лет ведется изучение особенностей поражения некоторых критических систем (крововетворной и репродуктивной) при малых дозах облучения со снижающейся мощностью дозы, что характерно для техногенных аварийных ситуаций.

Многопараметровая оценка состояния генома лиц, перенесших в прошлом низкодозовое лучевое воздействие вследствие радиационных аварий и испытаний ядерного оружия, осуществляется в лаборатории радиационной генетики (рук. – д. б. н., проф. И. Е. Воробцова). Цитологические исследования, проведенные с помощью метода проточной цитофлюориметрии, позволили изучить в эксперименте пролиферативную активность костного мозга животных в отдаленные сроки после пролонгированного облучения (рук. – проф. А. С. Ягунов).

В лаборатории биотестирования токсических факторов окружающей среды (рук. – проф. С. Д. Иванов) продолжают исследования комбинированного воздействия облучения в малых дозах

и металлов-экоотоксикантов, выявляются закономерности генотоксического эффекта на кроветворную систему радиации и различных металлов. Продолжаются клиничко-экспериментальные исследования гематоксического эффекта подведенных доз при лучевой и химиотерапии больных раком молочной железы, мочевого пузыря, лимфомой Ходжкина с применением разработанного здесь метода, защищенного патентом на изобретение. Оценка этого показателя позволяет повысить эффективность лечения за счет оптимизации схем терапии.

В группе радиационной фармакологии продолжают поиски эффективных противоопухолевых и радиомодифицирующих лекарственных средств пуринового и пиримидинового ряда, а также других азотосодержащих гетероциклических соединений (рук. – к. м. н. Л. П. Варганиян, д. б. н. С. Ф. Вершина).

Одним из приоритетных и значимых в теоретическом и практическом аспектах направлений НИР в Центре является создание новых диагностических и лекарственных препаратов на основе методов биотехнологии. Эти работы ведутся в трех направлениях: разработка отечественных препаратов легочного сурфактанта, а также способов сурфактант-терапии, развитие гибридной технологии и генно-инженерных методов диагностики и лечения опухолей. Ранее в Центре была создана технология получения отечественных препаратов легочного сурфактанта и способов сурфактант-терапии острой дыхательной недостаточности при критических состояниях (респираторном дистресс-синдроме, РДС) у новорожденных детей и взрослых (рук. – проф. О. А. Розенберг). Большое практическое и социальное значение имеют последние достижения в этой области: показана высокая эффективность «Сурфактанта БЛ» в группе больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью к противотуберкулезной терапии. Доклинические испытания препаратов сурфактанта и экспериментальные обоснования его терапевтического применения ведутся в лаборатории доклинических испытаний биологических препаратов (рук. – д. м. н. В. А. Волчков, д. м. н. В. Ф. Дубровская и др.).

Гибридная технология относится к числу высших медицинских технологий и используется для диагностики широкого круга заболеваний. В лабора-

тории гибридной технологии (рук. – д. м. н., проф. В. Б. Климович) создан ряд гибридом, распознающих иммуноглобулины человека. Созданы МКАТ против секреторного иммуноглобулина А (sIgA А). Получена панель МКАТ против С-реактивного белка для использования в диагностических и исследовательских целях, ведутся также фундаментальные исследования по грантам РФФИ «Исследование гомологов J цепи иммуноглобулинов у беспозвоночных животных».

В лаборатории генной инженерии (рук. – д. б. н. В. И. Евтушенко) ведется поиск опухолевых ДНК-маркеров для молекулярной диагностики. Проводятся работы по выяснению роли нетрансформирующих вирусов в этиологии и прогрессии онкологических заболеваний. В области наномедицины разработаны суперпарамагнитные частицы, позволяющие обеспечить направленную доставку ДНК-вакцин в ткани мишени под действием внешнего магнитного поля. Также ведутся работы в области создания внутриопухолевого имплантата на основе жесткого ферромагнетика для подавления роста опухоли и механизма метастазирования.

Перспективы развития научно-исследовательской и медицинской деятельности Центра основываются как на результатах, накопленных за предшествующий период, так и на дальнейшей модернизации технической и технологической базы, новых направлениях НИР, расширении клинического сектора за счет строительства нового корпуса, что позволит увеличить диапазон и улучшить качество оказания высокотехнологичной медицинской помощи населению.

В заключение следует сказать, что Российский научный центр радиологии и хирургических технологий – первое в мире специализированное учреждение рентгенорадиологического профиля – внес значительный вклад в развитие отечественной науки. Имеются все основания утверждать, что и в дальнейшем Центр будет играть лидирующую роль в развитии отечественной радиологии, лучевой диагностики и ряда передовых хирургических технологий.

Президиум СЗО РАМН и редакционная коллегия журнала поздравляют коллектив Российского научного центра радиологии и хирургических технологий со знаменательной датой и желают дальнейших творческих побед и научных открытий.



АРТАМОНОВА
Воля Георгиевна
(к 80-летию со дня рождения)



Артамонова В. Г. – врач-профпатолог, врач-терапевт, педагог – закончила Ленинградский санитарно-гигиенический медицинский институт (1952). Врачебную деятельность начала в 1952 г. клиническим ординатором кафедры гигиены труда и профболезней; 1955–1956 гг. – врач-ординатор клиники профболезней; 1956–1962 гг. – ассистент кафедры гигиены труда и профболезней; 1962–1964 гг. – доцент кафедры гигиены труда и профболезней, с 1964 г. по настоящее время – заведующая кафедрой профессиональных болезней, доктор медицинских наук (1969), профессор (1970); с 1958 по 1962 г. – зам. декана; с 1968 по 1990 г. – декан факультета повышения квалификации преподавателей Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова. В 2001 г. на кафедре профессиональных болезней под ее руководством создана академическая группа, которая успешно выполняет исследования по теме «Эколого-гигиеническая и клиническая оценка факторов риска в развитии производственно обусловленных заболеваний органов дыхания в условиях Северо-Западного региона».

Начало научной деятельности В. Г. Артамоновой связано с работами по изучению профпатологических аспектов действия вибрации на организм человека, проводившихся под руководством виднейшего гигиениста страны – профессора Е. Ц. Андреевой-Галаниной. В течение многих лет накапливались сведения о патологии, возникающей от воздействия вибрации, позволившие рассматривать вибрационную болезнь как самостоятельную нозологическую единицу, как заболевание всего организма.

Особой заслугой В. Г. Артамоновой является разработка дифференциальных подходов к лечению и экспертизе трудоспособности, а также вопросам социально-трудовой реабилитации больных вибрационной болезнью при различных степенях выраженности патологического процесса. Этим вопросам посвящено значительное число работ В. Г. Артамоновой, в том числе монография «Эк-

спертиза трудоспособности». В дальнейшем под ее руководством проводились клинико-гигиенические исследования вопросов патогенеза вибрационной и шумовой патологии, в частности по уточнению роли нейрогуморальных механизмов в развитии вегетативно-сосудистых нарушений, изучались социально-гигиенические аспекты адаптации и реабилитации больных при этих формах профессиональных

заболеваний, что нашло отражение в руководстве по профессиональным болезням под редакцией академика Н. Ф. Измерова (1996). На основании своего опыта, результатов исследований своих учеников она по-новому и современно освещает вопросы лечения, реабилитации и профилактики вибрационной болезни и шумовой патологии.

С 1975 г. предметом творческой деятельности В. Г. Артамоновой стала разработка вопросов профпатологии бронхолегочного аппарата у работающих в условиях воздействия пылей органического происхождения. Ею детально изучались клини-



ко-иммунологические аспекты состояния здоровья работающих в микробиологической промышленности, проблемы медицины труда при производстве БВК, в целлюлозно-бумажной промышленности, в сельском хозяйстве. Эти работы сыграли важную роль в развитии современных представлений об этиопатогенезе профессиональной бронхиальной астмы при воздействии биологических факторов, обладающих высокой сенсибилизирующей способностью, в разработке мер профилактики этого заболевания и его лечения. Актуальность этих исследований обусловлена тяжелым характером заболевания, развивающегося в сравнительно короткие сроки.

Новым и оригинальным было заключение профессора В. Г. Артамоновой о необходимости дифференциальной диагностики пылевых заболеваний легких с учетом действия не только профессиональных, но и экологических факторов. Результаты длительных гигиенических, клинических и экспериментальных исследований дали возможность профессору В. Г. Артамоновой (совместно с Б. Б. Фишманом и

Б. Т. Величковским) описать новую форму заболевания – муллитоз.

Большое внимание в своей работе В. Г. Артамонова уделяет воспитанию научных кадров. Под ее руководством подготовлено 70 кандидатов и 23 доктора медицинских наук.

Профессор В. Г. Артамонова – автор более 400 научных работ, в т. ч. 6 монографий, изданных за последние 5 лет. Ее книги служат учебными пособиями при подготовке медицинских работников как высшего, так и среднего звена. Среди них заслуживают особого внимания «Руководство по профессиональным болезням» (под ред. академика Н. Ф. Измерова, 1996), «Муллитоз» (1998), «Профессиональная бронхопальмонология» (2001), «Силикатоз» (2003), «Учебник по профессиональным болезням» (4-е изд-е), написанный совместно с кафедрой терапии и про-

фессиональных болезней Московской медицинской академии им. И. М. Сеченова (2004), и многие др.

Воля Георгиевна имеет почетное звание «Заслуженный деятель науки РФ» (1991), медаль «За доблестный труд», серебряную медаль ВДНХ, почетные знаки «Отличник здравоохранения», «За отличные успехи в высшей школе», почетную грамоту Совета Министров, медаль «За заслуги перед отечественным здравоохранением» и другие правительственные награды.

Президиум СЗО РАМН, редакционная коллегия журнала, сотрудники академии, коллеги по работе, студенты сердечно поздравляют Волю Георгиевну с Юбилеем. Желают отличного здоровья, большого семейного счастья, дальнейших успехов в научной и общественной работе.



ФЕДЕРМЕССЕР
Виталий Александрович
 (1940—2008)

19 июля на 68-м году жизни после тяжелой болезни скончался генеральный директор ОАО «Кондопога» Виталий Александрович Федермессер.

Ушел из жизни человек, чье имя навсегда вписано в историю не только предприятия, но и города Кондопоги, республики, лесной отрасли. Высококвалифицированный специалист, знающий все тонкости технологии производства газетной бумаги, неутомимый труженик, талантливый инженер, организатор производства В.А.Федермессер внес большой вклад в развитие предприятия, которое возглавил почти 20 лет тому назад и которое благодаря его усилиям стало ведущим в своей отрасли.

Виталий Александрович Федермессер в 1965 году окончил Ленинградский технологический институт целлюлозно-бумажной промышленности, и с тех пор вся его трудовая деятельность была связана с одним предприятием – ОАО «Кондопога». Начинал он начальником смены, работал главным технологом, заместителем главного инженера, начальником производства, главным инженером, а в 1989 году Виталий Александрович был избран генеральным директором предприятия.

Высокий рейтинг ОАО «Кондопога», отличное качество бумаги, широкое развитие социальной сферы, стоящей на одной ступеньке с основным производством, – вот визитная карточка предприятия, и в этом безусловная заслуга Виталия Александровича Федермессера. Его труд получил высокую оценку. В 1981 году он был награжден орденом «Знак Почета», в 1997 и 1998 гг. – орденами «За заслуги перед Отечеством» четвертой и второй степени, медалью «За трудовое отличие»; ему присвоено звание «Заслуженный работник лесной промышленности Карельской АССР», Почетный гражданин Республики Карелия и города Кондопоги, «Почетный доктор Петрозаводского государственного университета», «Лидер Российской экономики – 2003», «Лидер Российского бизнеса в лесопромышленном комплексе – 2004».



За высокий профессионализм в руководстве предприятием, большой личный вклад в техническое перевооружение и модернизацию, наращивание объемов производства, а также за активное развитие социальной сферы города Кондопоги и материальную поддержку ветеранов труда в 2002 году Виталию Александровичу было присвоено звание «Человек года Республики Карелия».

Роль и значение Виталия Александровича Федермессера в развитии предприятия и города переоценить невозможно. Ведь если производство работает четко и организовано, то это, несомненно, заслуга руководителя предприятия и специалистов. В первую очередь все их силы и знания направлены на повышение качества продукции, которое соответствует мировым стандартам. Не случайно США, Англия, Германия, Италия, Швеция, Норвегия, Финляндия, Австрия, Индия,

Китай и многие другие страны стали предлагать партнерство в обмен на продукцию. И кто бывает сейчас в Кондопоге у возведенного специально для горожан Дворца искусств или на площади с изумительными фонтанами и красивыми лестницами, тот видит, как на устремленных в небо высоких «мачтах» развеваются флаги множества иностранных государств. Этих полотнищ порой бывает больше, чем перед зданием штаб-квартиры НАТО в Брюсселе, и каждое новое из них свидетельствует о расширении сотрудничества кондопожских бумажников с другими государствами и континентами.

Природоохранная деятельность ОАО «Кондопога» неизменно связана с техническим перевооружением производства. Выпуск «тонкой» газетной бумаги, т.е. снижение массы квадратного метра бумаги, сокращает потребление елового баланса на каждый гектар вырабатываемой продукции. Совершенствование технологии производства, оснащение цехов современным оборудованием предотвращают образование загрязняющих веществ и обеспечивают рациональное водопользование. Акционерное общество «Кондопога» разработало и с 1999 года

осуществляет долгосрочную программу природоохранных мероприятий, направленных на снижение выбросов загрязняющих веществ в атмосферу, сбросов в Кондопожскую губу Онежского озера и минимизацию образования промышленных отходов. С целью перевода объектов энергохозяйства на экологичный вид топлива – природный газ – построен газопровод и проводится реконструкция котельных цехов предприятия. С переводом на природный газ прекратился выброс в атмосферный воздух окислов серы, золы угля и всех сопутствующих загрязнений, образующихся при сжигании каменного угля и мазута. Финансирование экологической программы, а это десятки и сотни миллионов рублей, осуществляется за счет собственных средств ОАО «Кондопога».

О серьезной поддержке производства говорил во время своего визита летом 2003 года и Президент России Владимир Путин, поставивший задачу удвоения внутреннего валового продукта. В ОАО «Кондопога» к задаче, поставленной Президентом России, отнеслись серьезно: будет продолжена модернизация комбината: уже идет подготовка к строительству одиннадцатой бумагоделательной машины, которая будет выпускать легкомелованную бумагу для офисов. Мощность новой машины составит 160 тыс. т бумаги в год. Недавно ОАО «Кондопога» приобрело в собственность Суоярвскую картонную фабрику, которая долгие годы находилась в очень сложном положении. В год выработка картона достигала всего 10–12 тыс. т.

В 2005 году в Карелии отметили еще одно чрезвычайно важное событие: пуск в эксплуатацию нового газопровода «Петрозаводск–Кондопога».

– Это грандиозное событие начинает новый этап в истории комбината. Перед нами открываются огромные возможности в развитии предприятия, поскольку перевод энергетического хозяйства на газ позволит нам полностью обеспечить себя теплом и электроэнергией, улучшить условия труда, открыть новые рабочие места, – отметил генеральный директор ОАО «Кондопога» Виталий Александрович Федермессер на торжественной церемонии символического зажжения газового факела, – Главным для комбината был и остается вопрос качества выпускаемой комбинатом продукции. Марка ОАО «Кондопога» известна своей надежностью. Партнеры знают: если мы берем заказ, то он будет выполнен качественно и в срок. Спрос на продукцию ОАО «Кондопога» всегда был достаточно высок, и сегодня количество заказов даже превышает возможности комбината. Всегда вовремя расплачиваемся с партнерами за поставленное оборудование и сырье. Конечно, это обеспечивается четким и слаженным ритмом работы предприятия. Мы – одна команда, от рабочего до директора, живем по единым для всех

законам и порядкам. Важно, что наши люди уверены в завтрашнем дне. Мы серьезно настроены на то, чтобы обеспечивать стабильность, не допустить захвата предприятия структурами, которые могут помешать его развитию.

ОАО «Кондопога», являясь градообразующим, имеющим огромное значение для Республики Карелия предприятием, постоянно вкладывает значительные средства в развитие основного производства и социальной сферы. Город растет и хорошеет вместе с комбинатом. В компактном уютном городе, где чаще, чем где бы то ни было, можно встретить гуляющие молодые пары с детскими колясками, сплошь и рядом достопримечательности, подаренные предприятием кондопожанам в последнее десятилетие, среди которых Дворец искусств ОАО «Кондопога», концертный зал которого украшает уникальный орган, входящий в четверку лучших органов Европы. Лучшим на Северо-Западе России, по общему признанию гостей города, является Дворец спорта олимпийского класса с великолепным ледовым полем, на зеркальной глади которого ежедневно расписываются кондопожские фигуристы и хоккеисты, баскетболом и гимнастическим залами. Кондопожская земля славится своими спортсменами: здесь родилась и выросла многократная олимпийская чемпионка Лариса Лазутина, неоднократная чемпионка Европы и мира Евгения Арбузова-Медведева. Быть может, сегодня четырех-, пятилетние кондопожские малыши, занимаясь в условиях, каких не имеют многие столичные спортсмены, делают свои первые шаги к олимпийскому пьедесталу. Отдохнуть от динамичных видов спорта и с пользой провести время можно в уютном, хорошо оборудованном шахматном клубе или тренажерных залах. Более тысячи юных кондопожан занимаются во Дворце спорта, а еще сотни укрепляют свое здоровье в бассейнах, на футбольных полях и стадионах, получают эстетическое воспитание в танцевальных, хоровых и вокальных студиях. И все это бесплатно, поскольку, по мнению руководства предприятия, будущее города и предприятия напрямую зависит от того, насколько нравственно и физически здоровым будет общество.

– У меня сердце радуется, когда я вижу молодежь, не болтающуюся по улицам без дела, а стремящуюся на стадионы и хоккейные площадки, в тренажерные залы и на лыжные трассы, спешащую позаниматься фигурным катанием и художественной гимнастикой, музыкой; посещающую концерты, кружки самодеятельности и уже почти профессиональные студии, – говорил В. А. Федермессер, – а значит, надо постоянно думать и об этой стороне жизни. Сегодня на производстве техника такая, что для ее обслуживания нужны специалисты очень высокого класса. Хорошие работники – высокоинтеллектуальные люди. Чтобы

их ниоткуда не завозить, чтобы доморощенные умы и таланты не утекали, надо в первую очередь молодежи создавать все условия на родной земле. Никто не будет искать счастья на стороне, если у себя дома хорошо....

Мудрая социальная политика приносит свои плоды. Город стал опрятнее и чище, ведь только у безнравственного человека может подняться рука на окружающую его красоту.

С добрым настроением по красивейшим тротуарам, освещенным цепочками ажурных, необыкновенно красивых фонарей, бумажники идут на работу. Их труд хорошо организован и поэтому высоко эффективен. С любовью людей встречают и в столовых предприятия, где всегда можно по-настоящему вкусно поесть. В меню непременно свежайшие молочные, мясные, рыбные блюда, овощи, зелень, выпечка. В буфетах столовых можно приобрести полуфабрикаты, которые любая хозяйка после очередного рабочего дня с легкостью превратит в по-домашнему вкусный ужин. Комбинат содержит свои свинарники и коровники, огромное форелевое хозяйство, теплицы.

Зарплаты были и остаются выше, чем в среднем по республике, хотя львиная доля средств по воле самого коллектива тратится на поддержание высокого уровня производства, качества продукции, дешевый «общепит». Самим работникам и их детям на родном предприятии и в городе созданы большие возможности быть грамотными, образованными, культурными, здоровыми.

Администрация предприятия, профсоюзный комитет ОАО «Кондопога» много внимания уделяют социальной защищенности женщин и семьи. Женщинам-работницам ОАО «Кондопога», выплачивается материальная помощь при рождении детей. В 1999 году на каждого ребенка выплачивалось около 900 руб., в 2004 размер единовременного пособия составил 15 тыс. руб. С 2000 года право на получение материального пособия распространяется и на мужчин предприятия, чьи жены не работают на ОАО «Кондопога». Сейчас размер выплат составляет 7500 руб. Отцам предоставляется также оплачиваемый день для встречи жены и ребенка из роддома.

Продуманная социальная политика, длительное время проводимая руководством предприятия в отношении женщин и семьи, дала результат. За последние 5 лет количество новорожденных в семьях бумажников выросло почти в два раза – со 120 до 210 в год. Женщинам, находящимся в отпуске по уходу за ребенком в возрасте до полутора и до трех лет, предприятие ежемесячно выплачивает по 3 тыс. руб. С 1999 года эта выплата увеличилась в 2,6 раза. В отпуске по уходу за детьми в 1999 году находилось 227 женщин, в 2004 их число увеличилось до

280. Беременные женщины бесплатно лечатся в санатории-профилактории предприятия. Многодетные семьи, имеющие трех и более детей, освобождены от родительской оплаты за посещение детьми дошкольных учреждений.

Единовременную материальную помощь в размере 8 тыс. руб. получают работники, пришедшие из рядов Российской армии, ранее трудившиеся на предприятии.

В новом корпусе бумагоделательной машины № 10 на доске объявлений висит приказ генерального директора: «На основании коллективного договора предоставлять льготы семьям инвалидов, погибших, умерших воинов-интернационалистов, опекунам, не получающим пособия из бюджета, семьям, в которых дети имеют недостатки в физическом и психическом развитии, гражданам, получившим или перенесшим лучевую болезнь, другие заболевания вследствие чернобыльской катастрофы...» – т. е. это помощь тем людям, заботу о которых государство пытается свалить со своих плеч.

Не остаются без внимания и пенсионеры предприятия. Им помогают в ремонте квартир, обеспечении дровами, если пенсионер проживает в частном доме. Предусмотрена ежемесячная выплата материальной помощи на удорожание стоимости питания и платы за жилье. Оказывается материальная помощь пенсионерам, бывшим работникам предприятия, если они имеют несовершеннолетних детей. Объем такой помощи труженикам предприятия и пенсионерам увеличился с 9 млн руб. в 1999 году до 30 млн руб. в 2003-м.

Предприятием в 1999 году для своих работников был построен медицинский центр, а в 2002 году в его составе введена в эксплуатацию современная поликлиника, в которой появились новые, оснащенные самым современным оборудованием кабинеты специалистов. Наряду с лечебно-профилактической деятельностью, используя потенциал современных технологий и созданной комплексной информационной системы, специалисты медицинского центра проводят большую научно-практическую работу: конференции и семинары, разработку программ профилактики, раннего выявления и лечения наиболее серьезных заболеваний. Применение комплексной медицинской информационной системы лечебно-профилактического учреждения, разработанной здесь же и являющейся одной из наиболее совершенных в России, позволяет повысить эффективность повседневного наблюдения за состоянием здоровья пациентов.

Осенью 1999 года во время первого визита в Карелию членов Президиума СЗО РАМН состоялась встреча Председателя Президиума СЗО РАМН, Вице-Президента РАМН, академика РАМН Б. И. Ткаченко

с генеральным директором ОАО «Кондопога» В. А. Федермессером, которая и обозначила сотрудничество предприятия с СЗО РАМН. ОАО «Кондопога» совместно с Правительством Карелии, Петрозаводским госуниверситетом и Северо-Западным отделением РАМН выступило соучредителем в создании Карельского научного медицинского центра СЗО РАМН. Ныне медицинские учреждения ОАО «Кондопога» являются клинической базой центра.

Позже, в феврале 2000 года, В. А. Федермессером была горячо поддержана инициатива Президиума СЗО РАМН об издании «Медицинского академического журнала»: на Совете директоров ОАО «Кондопога» принято решение о ежегодном выделении бумаги на издательские расходы.

За всем этим стоял Генеральный директор Виталий Александрович Федермессер, социальная программа его предприятия. За ней – жизнь, здоро-

вье, уверенность в завтрашнем дне. Такую мудрую жизненную философию исповедовал Кавалер двух орденов «За заслуги перед Отечеством» Виталий Александрович Федермессер, человек незаурядных способностей и дарований.

Люди воздают должное его деловым достоинствам, редкостным душевным качествам. В сердцах всех, кто его знал, кто общался и работал с ним, он оставил о себе самую светлую память. Мы никогда его не забудем.

Президиум Северо-Западного отделения РАМН, Редколлегия «Медицинского академического журнала» выражают искренние соболезнования родным и близким Виталия Александровича Федермессера, его друзьям, всему трудовому коллективу ОАО «Кондопога», кондопожанам и жителям Республики Карелия.

Медицинский академический журнал
Том 8. № 3. 2008

Редактор *Л. В. Каретина*
Художественно-технический редактор *С. П. Иванова*

Подписано в печать 29.08.08
Формат 60×90 1/8. Бумага мелованная. Уч.-изд.-л. 16,5
Усл.кр.-отг. 63. Тираж 500 экз. Изд. № 196

Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
ПЕТРОЗАВОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Отпечатано в типографии Издательства ПетрГУ
185910, Петрозаводск, пр. Ленина, 33

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ ЖУРНАЛА
«МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ»

Профиль журнала. Журнал представляет междисциплинарное издание научно-теоретической и практической ориентации, направленное на публикацию оригинальных исследований, обзоров, лекций, рецензий по актуальным вопросам фундаментальной, клинической и профилактической медицины. Имеет следующие рубрики: редакционная статья, обзоры, фундаментальная медицина, клиническая медицина, профилактическая медицина и экология, лекции для врачей и специалистов, письма в редакцию, дискуссии, рецензии, коммерческая информация, текущая информация. Ориентирован на широкий круг научной общественности, практических врачей, биологов, экологов. В журнале печатаются ранее не опубликованные работы по профилю журнала. Не принимаются к печати статьи, представляющие собой отдельные этапы незавершенных исследований, а также статьи с нарушением Правил и норм гуманного обращения с объектами исследований.

Представление в журнал. Статья должна иметь представление действительного члена или члена-корреспондента Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук. Не требуют представления статьи, где соавторами являются действительные члены или члены-корреспонденты СЗО РАМН.

Структура статей. Рукопись должна иметь направление от учреждения, где выполнялась работа. Заглавие должно быть кратким (не более 120 знаков), точно отражающим содержание статьи. Под заглавием помещаются инициалы и фамилии авторов, затем указываются полное название учреждения, город и почтовый индекс. Перед текстом статьи помещаются резюме (до 1500 знаков) и ключевые слова (до 10). Резюме не требуется при публикации рецензий, отчетов о конференциях, коммерческой информации. В статье целесообразно соблюдать следующий порядок изложения: заглавие, авторы, учреждение, резюме, ключевые слова, введение, методика, результаты исследования, обсуждение результатов, литература, резюме на английском языке с ключевыми словами и переводом фамилий авторов и названия статьи. На отдельных страницах представляются таблицы, рисунки и подписи к рисункам. В разделе «Методика» обязательно указываются сведения о статистической обработке экспериментального или клинического материала. Не допускаются сокращения слов, кроме принятых Комитетом стандартов. Единицы измерения даются в соответствии с Международной системой единиц СИ. Фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции. На поля следует выносить номера рисунков, таблиц, особые знаки.

Объем рукописи. Объем рукописи обзора не должен превышать 25 страниц машинописного текста (включая таблицы, список литературы, подписи к рисункам и резюме на английском языке). Объем рукописи статьи экспериментального характера не должен превышать 15 страниц машинописного текста; кратких сообщений (писем в редакцию) – 7 страниц; отчетов о конференциях – 3 страниц; рецензий на книги – 3 страниц; лекций для врачей – 15 страниц.

Иллюстрации. Число рисунков не должно превышать пяти. Фотоснимки должны быть отпечатаны на белой глянцево-бумажной бумаге, присылаются в двух экземплярах, один из них без надписей и цифр. На обороте рисунков необходимо указать карандашом фамилии авторов и названия статьи. Графики должны быть изготовлены тушью или с помощью лазерного принтера, к графикам должны прилагаться исходные табличные данные. В подписях под рисунками должны быть сделаны объяснения значений всех кривых, букв, цифр и прочих условных обозначений. Все графы в таблицах должны иметь заголовки. Сокращение слов в таблицах не допускается. Повторять одни и те же данные в тексте, на рисунках и в таблицах не следует.

Литература. Список литературы должен представлять полное библиографическое описание цитируемых работ в соответствии с ГОСТ 7.1-84. Если число авторов превышает четыре, приводятся первые три, затем пишется: и др. Фамилии и инициалы авторов в алфавитном порядке, сначала русского, затем латинского алфавита, полное название статьи, знак //, стандартное сокращенное название журнала, год, том, номер, первая и последняя страницы. Вся информация о выходных данных издания отделяется точками. Сокращения для обозначения тома – Т., для номера – №, для страниц – С. В англоязычном варианте: том – Vol., номер – №, страницы – P. Например: Шабанов П.Д. Механизмы лекарственной зависимости // Мед. акад. вестн. 2001. Т. 1. № 1. С. 27–35. Монография, руководство: авторы, название книги, место издания, издательство, год. Например: Ткаченко Б. И. Физиология человека. СПб.: Наука, 2000. Глава в книге: авторы, полное название, знак //, название книги, знак /, фамилии редакторов, место издания, издательство, год, первая и последняя страницы. Например: Лебедев А.А. Поведенческие эффекты алапиды у крыс-изолянтов // Эмоциональное поведение / Под ред. Е.С. Петрова. СПб.: Питер, 2000. С. 56–78. Цитирование в тексте дается в прямых скобках на номер работы в списке литературы. Не следует включать в список литературы диссертации. Необходимо, чтобы цитируемые источники соответствовали списку литературы.

Оформление. Рукописи предоставляются в редакцию в двух экземплярах, распечатанных на одной стороне листа стандартной белой бумаги 210x297 мм, с электронной копией на диске 3,5" в редакторах, совместимых с Word for Windows версии 6.0 или 7.0. При наборе используйте шрифт Times New Roman, стандартный 12 кегль, для таблиц 8 кегль, для подписей к рисункам 10 кегль. Рисунки, схемы, фотографии должны быть представлены в расчете на печать в черно-белом виде в точечных форматах tif (300–600 dpi) или в векторных форматах Word for Windows (wmf), Corel Draw (cdr). При оформлении графических материалов учитывайте размеры печатного поля журнала (равного 8,5 или 17,8 см). Масштаб 1:1. Статья должна быть подписана всеми авторами. В конце статьи следует указать полностью имя, отчество, фамилию авторов, служебный и домашний адрес, телефон, факс. E-mail. Следует указать фамилию автора, с которым будет вестись переписка.

Рецензирование. Статьи, поступившие в редакцию, обязательно рецензируются. Если у рецензента возникают вопросы, статья возвращается на доработку. Датой поступления статьи считается дата получения редакцией окончательного варианта статьи. Редакция оставляет за собой право внесения редакторских изменений в текст, не искажающих смысла статьи.

Отписки. Редакция высылает авторам 2 копии журнала, в котором опубликована статья.

Гонорар. Редакция не выплачивает гонорара за статьи.

Авторское право. Авторское право на конкретную статью принадлежит авторам статьи, что отмечается знаком ©. За издательством остается право на оформление и издание журнала. При перепечатке статьи или ее части ссылка на журнал обязательна.

Реклама. Журнал публикует рекламу по профилю журнала в виде отдельных рекламных модулей на 2, 3 и 4-й страницах обложки (полноцветная печать), статей, содержащих коммерческую информацию по профилю журнала с указанием "Публикуется на правах рекламы". Размещение рекламы в журнале платное. Объем помещения рекламной информации в журнале ограничен.

Адрес редакции: Санкт-Петербург, 197022, Каменноостровский пр., д. 69/71, СЗО РАМН, Редакция журнала «Медицинский академический журнал». Ответственный секретарь – проф. Петр Дмитриевич Шабанов. Тел.: (812) 542-4397; факс: (812) 234-9487; E-mail: shabanov@mail.rcom.ru.

**Уважаемые читатели журнала
«Медицинский академический журнал»!**

Сообщаем, что продолжается подписка на журнал на 2-е полугодие 2008 года.

Наш подписной индекс – 14552.

Периодичность – 4 номера в год.

Стоимость

одного номера для индивидуальных подписчиков и организаций – 100 руб.,

подписки на 2-е полугодие – 200 руб.

Для подписки можно воспользоваться предлагаемым здесь бланком абонемента.

Министерство связи Российской Федерации		на газету		14552							
АБОНЕМЕНТ		на журнал									
Медицинский				(индекс издания)							
(наименование издания) академический журнал				Количество комплектов:							
на 2008 год по месяцам:											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда											
(почтовый индекс)					(адрес)						
Кому											
					(фамилия, инициалы)						

			на газету		14552						
			на журнал								
ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА											
пв	место	ли-тер									
Медицинский академический журнал											
(наименование издания)											
Стоимость	подписки	руб.	коп.	Количество комплектов:							
	пере-адресовки	руб.	коп.								
на 2008 год по месяцам:											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда											
(почтовый индекс)					(адрес)						
Кому											
						(фамилия, инициалы)					