

МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ОФИЦИАЛЬНОЕ ИЗДАНИЕ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ТОМ 15
2015 № 2

ISSN 1608-4101





Фортелизин®

Опережая время,
сохраняем жизнь



Инновационная молекула

Новые возможности тромболитической
терапии на догоспитальном этапе:

- удобное болюсное введение
- эффективный тромболизис
- минимальный риск кровотечений

Регистрационный номер: ЛП-001941 от 18.12.2012 г. Наименование и адрес производителя: ООО «Супраген»,
119270, г. Москва, Лужнецкая наб., д. 6, стр. 1, тел./факс (495) 287-98-07, www.fortelyzin.ru, e-mail: info@supergene.ru



Супраген®

МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 2

ТОМ 15

2015

ОФИЦИАЛЬНОЕ ИЗДАНИЕ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

**Северо-Западное отделение медицинских наук
Институт экспериментальной медицины
Балтийский медицинский образовательный центр**

Главный редактор:
академик РАН *Г. А. Софронов*

Заместитель главного редактора:
академик РАН *Н. А. Беляков*

Ответственный секретарь:
доктор биологических наук *А. В. Дмитриев*



Адрес: 197022, Санкт-Петербург, Каменноостровский пр., д. 71,
Северо-Западное отделение Российской академии наук,
Редколлегия журнала «Медицинский академический журнал»
Тел.: (812) 407-83-43; факс: (812) 407-83-37

e-mail: medicalacademicjournal@gmail.com; infeklcijaids@gmail.com

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

Редакционная коллегия

Э. К. Айламазян — академик РАН, Санкт-Петербург
С. Ф. Багненко — академик РАН, Санкт-Петербург
В. Б. Васильев — профессор, Санкт-Петербург
В. Р. Вебер — член-корреспондент РАН, Великий Новгород
И. П. Дуданов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
С. А. Кетлинский — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Ю. В. Лобзин — академик РАН, Санкт-Петербург
В. И. Мазуров — академик РАН, Санкт-Петербург
Н. А. Майстренко — академик РАН, Санкт-Петербург
А. О. Марьяндышев — член-корреспондент РАН, Архангельск
А. С. Симбирцев — профессор, Санкт-Петербург
А. Г. Софронов — профессор, Санкт-Петербург
А. Н. Суворов — профессор, Санкт-Петербург
А. А. Тотолян — академик РАН, Санкт-Петербург
Т. Н. Трофимова — профессор, Санкт-Петербург

Редакционный совет

А. Г. Баиндурашвили — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
В. С. Баранов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Б. В. Гайдар — академик РАН, Санкт-Петербург
А. М. Гранов — академик РАН, Санкт-Петербург
А. Я. Гриненко — академик РАН, Санкт-Петербург
А. Б. Жебрун — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
О. И. Киселев — академик РАН, Санкт-Петербург
Е. А. Корнева — академик РАН, Санкт-Петербург
С. В. Лобзин — профессор, Санкт-Петербург
В. А. Медик — член-корреспондент РАН, Великий Новгород
М. М. Одинак — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Л. В. Поташов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Н. С. Сапронов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
А. А. Скоромец — академик РАН, Санкт-Петербург
П. И. Сидоров — академик РАН, Архангельск
С. А. Симбирцев — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Р. М. Тихилов — профессор, Санкт-Петербург
П. Д. Шабанов — профессор, Санкт-Петербург
А. В. Шабров — академик РАН, Санкт-Петербург
Е. В. Шляхто — академик РАН, Санкт-Петербург
В. Х. Хавинсон — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Н. А. Яицкий — академик РАН, Санкт-Петербург
Ю. К. Янов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург

MEDICAL ACADEMIC JOURNAL

№ 2

Vol. 15

2015

THE OFFICIAL PUBLICATION OF THE NORTHWEST BRANCH OF THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES
SCIENTIFIC AND PRACTICAL PEER-REVIEWED JOURNAL

**North-West Branch of Medical Sciences
Institute of Experimental Medicine
Baltic Medical Educational Center**

Editor in Chief:

G. A. Sofronov

Full Member of the Russian Academy of Sciences

Deputy Editor in Chief:

N. A. Belyakov

Full Member of the Russian Academy of Sciences

Executive Secretary:

A. V. Dmitriev

Doctor of Biological Sciences



Address: 197022, St. Petersburg, Kamennooostrovskiy, 71,
North-West Branch of the Russian Academy of Sciences,
Editorial board «Medical academic journal»
Tel.: (812) 407-83-43; fax: (812) 407-83-37

e-mail: medicalacademicjournal@gmail.com; infeklcijaids@gmail.com

Editorial Board

E. K. Ailamazian, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
S. F. Bagnenko, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
I. P. Dudanov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
S. A. Ketlinskiy, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Yu. V. Lobzin, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
V. I. Mazurov, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
N. A. Maistrenko, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. O. Maryandyshev, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. S. Simbirtsev, professor, St. Petersburg
A. G. Sofronov, professor, St. Petersburg
A. N. Suvorov, professor, St. Petersburg
A. A. Totolyan, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
T. N. Trofimova, professor, St. Petersburg
V. B. Vasiliev, professor, St. Petersburg
V. R. Veber, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Velikiy Novgorod

Editorial Council

A. G. Baidurashvili — corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
V. S. Baranov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
B. V. Gaidar, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. M. Granov, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. Ya. Grinenko, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. B. Zhebrun, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
O. I. Kiselev, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Ye. A. Korneva, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
S. V. Lobzin, professor, St. Petersburg
V. A. Medic, corresponding member of the Russian Academy of Medical Sciences, Velikiy Novgorod
M. M. Odinak, corresponding member of the Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg
L. V. Potashov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
N. S. Sapronov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. A. Skoromets, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
P. I. Sidorov, full member of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk
S. A. Simbirtsev, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
R. M. Tikhilov, professor, St. Petersburg
P. D. Shabanov, professor, St. Petersburg
A. V. Shabrov, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Ye. V. Shlyakhto, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
V. H. Khavinson, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
N. A. Yaitsky, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Yu. K. Yanov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

СОДЕРЖАНИЕ**ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ**

- ПЕРВЫЙ ПОЧЕТНЫЙ ЧЛЕН ИМПЕРАТОРСКОГО ИНСТИТУТА
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ7
Ю. А. Мазинг

АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

- ГЛУТАМИН И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ В КОРРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ
НАРУШЕНИЙ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ15
В. М. Луфт, А. В. Дмитриев, Н. В. Сизова, академик РАН Н. А. Беляков

ЛЕКЦИИ

- ТЕЛЬЦА МАРИНЕСКО – ВНУТРИЯДЕРНЫЕ ВКЛЮЧЕНИЯ
ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ28
И. П. Григорьев, Д. Э. Коржевский
- БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА СЫВОРОТОЧНЫХ
АНТИТЕЛ К НЕЙРАМИНИДАЗЕ ВИРУСА ГРИППА35
Ю. А. Дешева, Т. А. Смологодина, Л. Г. Руденко

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ TGF- β_1 В ЛЕВЫХ И ПРАВЫХ ОТДЕЛАХ
СЕРДЦА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ АДРЕНЕРГИЧЕСКОМ
И ХРОНИЧЕСКОМ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОМ СТРЕССЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ45
*В. Р. Вебер, Ю. В. Лобзин, М. П. Рубанова, С. В. Жмайлова, П. М. Губская, В. Е. Карев,
Е. Е. Румянцев*
- ВЛИЯНИЕ ВНУТРИСТРИАРНЫХ ВВЕДЕНИЙ АЦЕТАТА ЦИНКА НА НОРМАЛЬНОЕ
И ПАТОЛОГИЧЕСКОЕ ДВИГАТЕЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС50
А. Ф. Якимовский, С. Ю. Крыжановская
- СОСТОЯНИЕ ОКСИДАТИВНОГО СТАТУСА КРОВИ И ТКАНЕЙ
ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПОРАЖЕНИЯХ МЯГКИХ ТКАНЕЙ
ПАРОДОНТА У КРЫС ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЗУБНЫХ ПАСТ И ИХ ОТДЕЛЬНЫХ
КОМПОНЕНТОВ55
П. Д. Шабанов, Е. В. Мокренко

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- НАРУШЕНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ
БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПО ДАННЫМ
ПОЛИГЕПАТОГРАФИИ62
А. Г. Манасян, С. Ю. Ермолов, А. В. Шабров, А. Л. Добкес, С. Г. Манасян, С. В. Сердюков
- ПРОФИЛАКТИКА ЛИЗИСА АУТОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТОВ
В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ГЛУБОКИХ ОЖОГОВ69
В. В. Солошенко

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

- К ВОПРОСУ О МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ГЕПАТИТА D В КЫРГЫЗСТАНЕ ...73
Ю. В. Останкова, К. А. Ногойбаева, А. В. Семенов, Арег А. Тотоян

АРХИВ

- СТРУКТУРА ИНСТИТУТА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ В ПЕРИОД
ВЕЛИКОЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВОЙНЫ (АРХИВНЫЕ МАТЕРИАЛЫ)79
Д. Э. Коржевский

CONTENTS

HISTORY OF MEDICINE

- THE FIRST HONORARY MEMBER OF THE IMPERIAL INSTITUTE
OF EXPERIMENTAL MEDICINE7
Yu. A. Mazing

ANALYTICAL REVIEW

- GLUTAMINE AND ITS DERIVATIVES FOR CORRECTION OF METABOLIC
DISORDERS IN HIV PATIENTS15
V. M. Luft, A. V. Dmitriyev, N. V. Sizova, full member of the RAS N. A. Belyakov

LECTURES

- MARINESCO BODIES: INTRANUCLEAR INCLUSION-BODIES
OF DOPAMINERGIC NEURONS28
I. P. Grigorev, D. E. Korzhevskii

- BIOLOGICAL AND PROTECTIVE PROPERTIES OF THE SERUM
ANTIBODIES DIRECTED AGAINST INFLUENZA VIRUS NEURAMINIDASE35
Yu. A. Desheva, T. A. Smolonogina, L. G. Rudenko

ORIGINAL ARTICLES

- SPECIFIC FEATURES OF TGF- β ₁ EXPRESSION IN THE LEFT AND RIGHT
HEART SEGMENTS DURING EXPERIMENTAL CHRONIC ADRENERGIC
AND CHOLINERGIC STRESS45
*V. R. Veber, Yu. V. Lobzin, M. P. Rubanova, S. V. Zhmailova, P. M. Gubskaya, V. E. Karev,
Ye. Ye. Rumyantsev*

- THE EFFECT OF INTRASTRIATAL ZINC ACETATE INJECTIONS ON NORMAL
AND PATHOLOGICAL LOCOMOTOR BEHAVIOR IN RATS50
A. F. Yakimovskiy, S. Yu. Kryzhanovskaya

- THE OXIDATIVE STATUS OF BLOOD AND TISSUES IN INFLAMMATORY
AND DEGENERATIVE DAMAGE TO THE SMOOTH PARODONTIUM TISSUE
IN RATS AFTER USING OF TOOTH PASTES AND THEIR SEPARATE COMPONENTS55
P. D. Shabanov, Ye. V. Mokrenko

CLINICAL STUDIES

- MICROCIRCULATORY DISORDERS OF THE LIVER FOUND WITH
POLYHEPATOGRAPHY IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE
AND HYPERTENSION62
A. G. Manasyan, S. Yu. Ermolov, A. V. Shabrov, A. L. Dobkes, S. G. Manasyan, S. V. Serdyukov

- PREVENTION OF SKIN GRAFTS LYSIS UPON THE SURGICAL TREATMENT
OF DEEP BURNS69
V. V. Soloshenko

EPIDEMIOLOGY

- ON MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF HEPATITIS D IN KYRGYZSTAN73
Yu. V. Ostankova, K. A. Nogoybaeva, A. V. Semenov, A. A. Totolian

ARCHIV

- THE STRUCTURE OF INSTITUTE OF EXPERIMENTAL MEDICINE
(LENINGRAD BRANCH OF ALL-UNION INSTITUTE OF EXPERIMENTAL MEDICINE)
DURING THE GREAT PATRIOTIC WAR (ARCHIVAL MATERIALS)79
D. E. Korzhevskii

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ

УДК 616.(092)

ПЕРВЫЙ ПОЧЕТНЫЙ ЧЛЕН ИМПЕРАТОРСКОГО ИНСТИТУТА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ

Ю. А. Мазинг

Лаборатория истории медицины Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

THE FIRST HONORARY MEMBER OF THE IMPERIAL INSTITUTE OF EXPERIMENTAL MEDICINE

Yu. A. Mazing

Laboratory of History of Medicine, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

© Ю. А. Мазинг, 2015 г.

Исполнилось 170 лет со дня рождения принцессы Евгении Максимилиановны Ольденбургской (1845–1925). Ее смело можно назвать первой деловой женщиной императорской семьи Романовых. Родившаяся и выросшая в Санкт-Петербурге Евгения впитала в себя его «всечеловеческую душу, способную ко всемирной отзывчивости». Выйдя замуж и став принцессой, помимо активного участия в формировании политики народного образования России, она сыграла заметную роль в управлении многими учреждениями медицинского профиля и первым русским научно-исследовательским институтом, регулярно исполняя обязанности Попечителя.

Ключевые слова: принцесса Ольденбургская, Институт экспериментальной медицины, попечитель.

In 2015, 170 years since the birth of Princess Yevgeniya Maksimilianovna Oldenburgskaya (1845–1925) passed. She may be safely characterized as the first business-woman of the Imperial family of the Romanovs. Yevgeniya who was born and grown up in Saint-Petersburg imbibed its «panhuman soul capable of responsiveness to the whole world». Having married and having become the princess, she not only took active part in developing the of policy of national education of Russia, but also played a noticeable role in managing many medical facilities and the first Russian medical research institute by regularly performing the duties of its Trustee.

Key words: Princess Oldenburgskaya, Institute of Experimental Medicine, Trustee.

Согласно Временному¹ Уставу Императорского Института Экспериментальной Медицины (ИИЭМ), утвержденному Императором Александром III 15 (27) апреля 1891 года в Гатчине, в состав Института входили: «1) действительные члены, 2) почетные члены, удостоившиеся этого звания выдающейся деятельностью в области задач, преследуемых институтом, и 3) члены-сотрудники, изъявившие готовность своими научными трудами, денежными пожертвованиями или иными способами». Действительные члены составляли Совет Института. В перечень обязанностей Совета под седьмым пунктом входило «указание лиц, коим желательно предоставить звание почетных членов и членов-сотрудников» [1]. Почетные члены назначались Попечителем по соглашению с министром внутренних дел с утверждением, по представлению Попечителя, первым лицом

Российской империи. Почетный член ИИЭМ получал соответствующий диплом за подписью Попечителя, директора и членов Совета Института.

Уже на втором заседании 25 сентября (07 октября) 1891 года Совет предложил назначить принцессу Е. М. Ольденбургскую Почетным членом ИИЭМ, однако «Всемилоостивейшее согласие Государя Императора» последовало лишь 19 (31) декабря 1891 года. Месяцем раньше Александр III (1845–1894) утвердил предложение Совета от 14 (26) октября признать Почетным членом профессора Луи Пастера (Pasteur L., 1822–1895), директора Института Пастера в Париже и иностранного Почетного члена Императорской Санкт-Петербургской Академии наук. Тем не менее, в архивных документах список почетных членов, который сегодня насчитывает 40 фамилий, открывает принцесса Е. М. Ольденбургская.

¹Как водится испокон веков на Руси, оказавшемуся постоянным вплоть до начала 1920-х гг.

Евгения Максимилиановна родилась 20 марта (01 апреля) в семье Максимилиана (Эжен Жозеф Огюст Наполеон) Богарне (1817–1852), герцога Лейхтенбергского, и Великой княгини Марии Николаевны (1819–1876), дочери Императора России Николая I (1796–1855). Свадьба ее родителей осталась на памяти высшего света столицы как первое государственное и семейное торжество в новом Зимнем дворце. Прабабушкой Евгении со стороны отца была французская императрица Мария Франсуаза-Жозефина (урожденная Мари Жозеф Роз Таше де ля Пажери), первая жена Наполеона I. Дедушка Евгении Эжен Богарне (1781–1824) активно участвовал в наполеоновских войнах. В 1812 году войска под его командованием устроили привал под стенами знаменитого Саввино-Сторожевского монастыря под Звенигородом. Ночью ему приснился сон, в котором Святой Савва просил не разрушать монастырь и предсказал, что Россия станет второй родиной его потомков. Утром Эжен Богарне приказал отступить. Пророчество сбылось, и его младший сын Максимилиан в 1837 году переехал в Россию. Бабушкой Евгении и супругой Эжена Богарне была принцесса Августа (Augusta Amalia Ludovika von Bayern, 1788–1851), дочь курфюрста, а затем короля Баварии Максимилиана I.

В качестве свадебного подарка родители Евгении получили дворец, построенный в 1762–1768 гг. по проекту архитектора Ж.-Б. Валлен-Деламота (1729–1800). В 1839–1844 гг. архитектор А. И. Штакеншнейдер (1802–1865) его перестроил, дворец стал именоваться Мариинским. В 1907–1908 гг. архитектор Л. Н. Бенуа (1856–1928) создал здесь зал заседаний Государственного Совета. В годы Великой Отечественной войны в Мариинском дворце размещался штаб армии Народного ополчения Ленинграда. Сегодня здесь заседает Законодательное собрание Санкт-Петербурга.

В детстве Евгению и ее младшую сестру Марию воспитывала графиня Елизавета Андреевна Толстая (в замужестве Замятина, ?–1867), двоюродная теть¹ писателя Льва Николаевича Толстого. Встретившись с Евгенией зимой 1857 года в Женеве, наш великий писатель позднее в одном из писем охарактеризовал ее так: «Впечатление, оставшееся у меня о Евгении Максимилиановне, такое хорошее, милое, простое и человеческое, и все, что я слышал и слышу о ней, все так подтверждает это впечатление...». В 1862 году Евгения Максимилиановна стала членом Императорского Женского патриотического общества (рис. 1).

07 (19) января 1868 года Ее Императорское высочество Евгения Максимилиановна, урожденная княгиня Романова, герцогиня Лейхтенбергская, принцесса Богарне выходит замуж и приобретает еще один титул: «принцесса Ольденбургская». Ее муж принц Александр Петрович Ольденбургский (1844–1932) один из наиболее ярких представителей российской ветви великогерцогского Ольденбургского дома, сыгравшего заметную роль в создании и совершенствовании отечественных образовательных и медицинских учреждений [2–5]. Бракосочетание состоялось в Зимнем дворце в присутствии 2500 гостей, в Большом танцевальном зале горело 4000 свечей... Юная Евгения, как вспоминал барон фон



Рис. 1. Ее Императорское высочество Евгения Максимилиановна, урожденная княгиня Романова, герцогиня Лейхтенбергская, принцесса Богарне.

Белью-Маркони, представитель Великого герцога на переговорах по заключению брачного договора «...была во всех отношениях привлекательна, очень естественна и без претензий. У нее было некрасивое, но очень приветливое лицо. Она не говорила по-немецки, но прилежно стремилась его выучить, чтобы в мае владеть им достаточно при посещении Ольденбурга» [6, с. 40].

¹ Дочь младшего брата деда писателя, старшая сестра знаменитой камер-фрейлины императорского двора графини Александры Андреевны Толстой (1817–1904).

В ноябре у молодоженов родился единственный ребенок — сын Петр (Peter-Friedrich-Georg, 1868–1924). По мнению графа Сергея Дмитриевича Шереметева (1844–1918), «В семейной жизни Евгения Максимилиановна была женщиной благоразумной и хорошей хозяйкой, внимательной, заботливой матерью и добросовестной до педантизма при исполнении своих супружеских обязанностей. Она общительна и гостеприимна, в обращении проста, она любит рассуждать, повествовать и заумствовать и казаться политической дамой» [7, с. 176–177].

В год замужества при Свято-Троицкой общине сестер милосердия была открыта Рождественская женская прогимназия с четырехгодичным курсом обучения. Уже в начале следующего года по предложению императрицы Марии Александровны (1824–1880) ее попечительницей назначали Е. М. Ольденбургскую. Здесь Евгения Максимилиановна в полной мере продолжила традицию семьи «русских» Ольденбургских по созданию новых образовательных учреждений на благотворительной основе [8].

Через девять лет учебное заведение получило статус гимназии. Как муж, как и свекровь, принцесса Евгения активно участвовала в формировании учебных программ для женского образования [9]. С 18 августа 1899 года Рождественская женская гимназия по Высочайшему рескрипту стала носить имя своей попечительницы, началось строительство специального здания на Лафонской улице (с 1952 года — ул. Пролетарской диктатуры). Окончившие полный курс гимназии получали статус домашней учительницы, а после обучения в дополнительном четвертом классе могли работать учительницами начальных школ. С 1910 года появились дополнительные педагогические классы, завершение образования в которых позволяло поступить в Женский педагогический институт. В 1918 году школа была преобразована в единую трудовую, но сохранила многие свои традиции. В 1991 году она вновь стала гимназией (№ 157), с началом XXI века в вестибюле появилась мемориальная доска, и вскоре школе вернули имя принцессы.

После смерти матери Евгения Максимилиановна с 1878 года заняла пост Председателя Общества поощрения художеств. Она устраивала выставки, конкурсы, помогала художественным школам, ее поддержку получили художники Е. М. Васнецов, А. Н. Бенуа, она высоко ценила Н. К. Рериха. Под ее руководством Общество устраивало в пригородах столицы, где были сосредоточены фабрики и заводы, особые отделения рисовальной школы для художественной подготовки лиц ремесленного сословия. Принцесса разработала положение об устройстве

художественно-промышленных мастерских, учредила художественно-промышленные курсы, расширила музей общества. Она активно содействовала изданию сборников художественно-промышленных рисунков и руководств. Была открыта рисовальная школа, которую возглавил Н. К. Рерих. При Евгении Максимилиановне Общество получило статус «Императорского» (государственного) и стало одним из центров художественной жизни столицы. Принцесса несомненно обладала художественным вкусом и талантом художника. Многие ее работы были опубликованы в виде открыток (рис. 2).

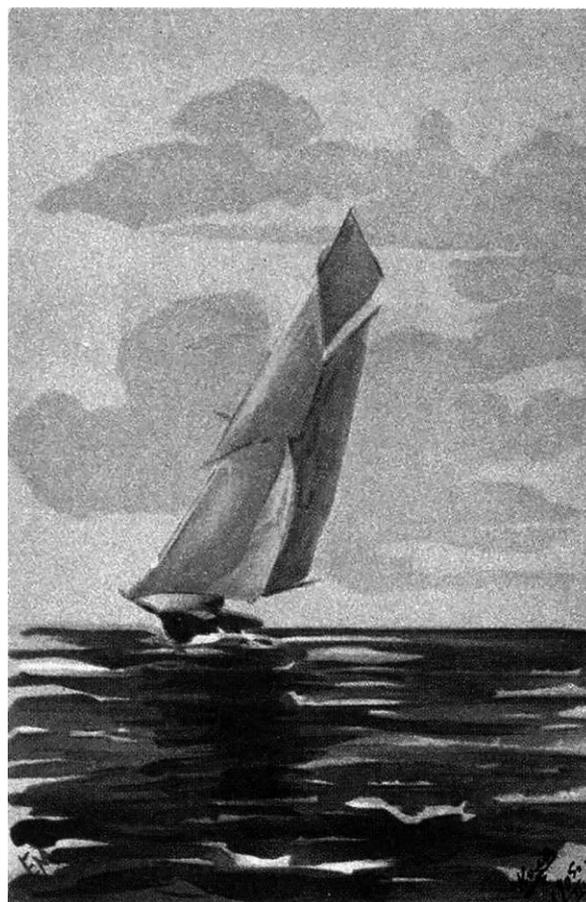


Рис. 2. Открытка, выпущенная издательством Общины сестер милосердия Святой Евгении. Рисунок принцессы Е. М. Ольденбургской.

В 1879 году император Александр II (1818–1881) купил у помещиков Тулиновых имение «Рамонь» под Воронежем и подарил своей племяннице, принцессе Е. М. Ольденбургской. Основанное еще в 1571 году село Рамонь раскинулось на высоком, изрезанном оврагами берегу р. Воронеж. В 1840 году на землях помещиков Тулиновых был устроен сахарный завод, один из первых в губернии. Во флигеле управляющего имением отставного подпоручика И. И. Мосина родился сын Сергей.

Окончив Воронежский кадетский корпус и Михайловское артиллерийское училище, Сергей Иванович Мосин (1849–1902) стал конструктором стрелкового оружия, создал знаменитую трехлинейную винтовку, верно служившую русским солдатам в двух мировых войнах. Флигель, где он родился и провел детские годы, не сохранился, но в 1967 году недалеко от того места установили его бюст.

Великолепный дворец в староанглийском стиле стал совместным творением Ольденбургских, принцессы Евгении Максимилиановны и ее супруга принца Александра Петровича. Дворец в Рамони возводили с 1883 по 1887 год, стены метровой толщины выкладывали из «пяточного» кирпича. Евгения Максимилиановна собственноручно выжигала потолочные плитки, оставляя на них инициалы А. Е. П. (Александр, Евгения, Петр). С особой любовью она отделала любимое место пребывания — библиотеку. На холме, вблизи завода, установили памятник с дарственной надписью: «Император Александр II Е. И. В. Е. М. Ольденбургской жалует имение Рамонь с сахарным заводом. Бомарзунд. 1879. Июня 27 дня».

Важным моментом деятельности принцессы стало медицинское обеспечение жителей близлежащих сел и рабочих сахарного завода. На границе между имением и селом, рядом со школой была построена небольшая больница. Возглавил лечебницу доктор медицины Павел Петрович Хижин (1852–1909), ученик профессоров В. А. Басова (1812–1879) и И. П. Павлова (1849–1936). В одном из отчетов он пишет: «Район деятельности Рамонской лечебницы имеет 120 верст в диаметре, и охватывает 539 селений, например... амбулаторных больных в 1891 году было 8226, а число сделанных ими посещений — 12 249, так что среднее число последних на каждый день равнялось 33-м, а максимальное доходило до 216. По годам заметно постоянное увеличение числа посещений» [10]. Одной из отличительных черт этого медицинского учреждения стали стационарное лечение больных сифилисом и регистрация пациентов по индивидуальным карточкам, представлявших собой полные санитарные и медицинские сведения о конкретной личности за всю ее жизнь — явный результат общения с директором ИИЭМ Э.-Л. Шперком (1837–1894).

Принцесса покровительствовала Попечительному комитету о бедных города Воронежа, который помогал нуждающимся жителям губернии денежными пособиями, одеждой, бесплатной медицинской помо-

щью. При необходимости Комитет помещал в богадельни и дешевые квартиры, устраивал детей в различные заведения. Под ее покровительством находилось также попечительство при Задонской школе ремесленных учеников, помогавшее уроженцам Задонского уезда в возрасте от 12 до 20 лет продолжить образование в данной школе [11].

В 1896 году Рамонь посетил генерал-от-инфантерии, поэт, переводчик, автор текстов известных романсов В. Кн. Константин Константинович Романов (1858–1915), выступавший под псевдонимом «К. Р.». Он так описал свои впечатления¹:

Мне бессильным не выразить словом,
Как у вас отдыхает душа,
Как под вашим приветливо кровом
И как ваша Рамонь хороша.
Хороша она далью лесною
И дворцом над обрывом крутым,
Хороша тихоструйной рекою
И привольным простором степным.
Но милее и лучше, и краше
Гор, оврагов, озер и поле
Дорогое радушие ваше
С простотой деревенской своей.

К началу XX века размер имения достиг 7600 десятин. Его центром стало перепланированное усадебное ядро имения Тулиновых и охотничьи угодья — зверинец, парк. Рядом располагался переоборудованный в 1890-е гг. сахарный завод, а также обширные сады и поля, сырье с которых перерабатывалось тут же. Для экспериментов по выращиванию сахарной свеклы было создано «опытное поле», с 1902 по 1907 год оно входило в состав «сети опытных полей» Всероссийского общества сахарозаводчиков. В 1901 году Евгения Максимилиановна протянула железнодорожную ветку Рамонь — ст. Графская, обеспечив транспортировку продукции и перевод сахарного завода на уголь. Для крестьян и рабочих были построены школа, больница, детские ясли. Производительность сахарного завода достигла 150 тысяч пудов сахара в год. Евгения Максимилиановна открыла рафинадный цех, а в 1900 году Рамонскую паровую фабрику конфет и шоколада. Ассортимент фабрики составили шоколад «Спорт», «Детский», «Рябиновый», «Здоровье», конфеты «Гренадинъ», «Гуайава», «Шедверъ», «Русские герои», мармелад «Империал», леденцы, молочная помадка и многие другие изделия, всего свыше 400 наименований. В 1903 году на Лондонской выставке конфеты были удостоены золотой медали, затем

¹ Стихотворение обнаружено лишь в 1918 году при перевозке вещей из дворца Ольденбургских в Воронежский губернский музей. Оно долгие годы ходило в списках среди старожилов Рамони. Впервые опубликовано краеведом Н. В. Ильинским в районной газете «Знамя Ленина» 30 апреля 1991 года.

серебряной в Брюсселе и бронзовой — в Париже. Рамонская фабрика получила высшую награду — «Grand Prix». После бракосочетания принца Петра Александровича и Великой Княгини Ольги Александровны (1882–1960, младшая сестра императора Николая II), Ольденбургские приобрели в 1901 году соседнее имение. Вновь созданная усадьба получила название Ольгино.

В 1907 году имение Рамонь вместе с сахарным заводом отошло в удельное ведомство. За Ольденбургскими осталось лишь Ольгино. Когда родители весной 1917 года перебрались в Финляндию, вышедший в отставку генерал-майор П. А. Ольденбургский отправился в Ольгино. По свидетельству Ивана Алексеевича Бунина (1870–1953) его кандидатуру рамонские мужики предлагали в Учредительное Собрание [12]. В этом была несомненная логика, поскольку по свидетельству И. С. Деминой «...Воронежская уездная земская управа регулярно выражала им {высочайшим супругам} благодарность за содействие уездному земству в деле народного образования, которое служило духовному развитию населения, а также являлось залогом его экономического благосостояния» [11].

Однако годом позже, как водилось в то время, обе усадьбы разграбили. В середине 1920-х гг. на базе опытного поля была создана опытно-селекционная станция Главсахара, а в 1959 году — Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара. В усадьбе Ольгино расположилась районная больница. В наши дни дворец Ольденбургских в Рамони продолжает притягивать взгляды потомков, особенно замок, будто подхваченный ураганом в Прибалтике или Чехии и приземлившийся на просторах Черноземья России. Смотришь на него, и великолепной чередой бегут эльфы, гномы, пролетают огнедышащие драконы, бесстрашный рыцарь склоняет колени пред балконом своей дамы... Витают вокруг него множество легенд и преданий.

Принцесса всегда и везде участвовала в поддержании святынь православия. В июне 1885 года принцесса Е. М. Ольденбургская принесла в дар Сампсониевской церкви часть мощей прп. Сампсония Странноприимца¹, заключенных в деревянный крест. 27 июня 1894 года Крестный ход торжественно перенес их из Пантелеймоновой церкви (ныне ул. Пестеля д. 1). «Святой Сампсон» («Солнцу подобный»), как написано в его житии, уже в юности обучился врачебному искусству, не по нужде, не из корысти, но единственно для того, чтобы не быть праздным и помогать страждущим.

¹Преподобный Сампсон называется Странноприимцем за добродетель «страннолюбия», что означает в современном языке помощь бездомным и скитающимся.

Но овладел он навыками врачевания поскольку «... по смирению скрывал благодать исцеления под видом своей опытности во врачебном искусстве...» Церковь эта воздвигнута памятью великой победы над шведами, одержанной под Полтавой



Рис. 3. Портрет принцессы Е. М. Ольденбургской с ее автографом.

27 июня 1709 года именно в день угодника Сампсония Странноприимца. Деревянная церковь построили в 1718 году по проекту Доменико Трезини при двух кладбищах: православном и иноверческом. В 1740 году главный Алтарь уже каменной церкви был освящен во имя Святого преподобного Сампсония Странноприимца и до сих пор является единственным во всем Вселенском Православии. В наши дни церковь эта является объектом исторического и культурного наследия федерального (общероссийского) наследия. А в 1902 году она оплатила реставрацию храма во имя святого Ипатия (Гагры), первоначальная постройка которого датируется VI в.

Евгения Максимилиановна Ольденбургская (рис. 3) была попечительницей основанной ее отцом Максимилиановской лечебницы (ныне Максимилиановская городская больница № 28 ул. Декабристов,

1–3), покровительницей Попечительского комитета о сестрах Красного Креста (с 1893 года — община Св. Евгении), от своего отца унаследовала должность председателя Императорского минералогического общества. Общественная деятельность принцессы получила широкое развитие, однако с началом XX века в значительной мере была пресечена тяжелой болезнью. По инициативе графини Елизаветы Николаевны Гейден (1833–1894)¹ и при поддержке семьи принцев Ольденбургских 26 ноября 1870 года была открыта Община сестер милосердия Святого Георгия. Сегодня это СПб городская больница Святого Великомученика Георгия (№ 4, Северный пр., 1). Здесь же профессор Сергей Петрович Боткин (1832–1889) четыре года спустя открыл женские фельдшерские курсы, просуществовавшие до 1882 года. Евгения Максимилиановна ежегодно из своих средств субсидировала Общину, объем вложений с 1870 по 1895 год составил 17 300 рублей [13]. Она была почетной председательницей Комитета при Общине, в ее честь был назван построенный в 1888 году Евгеньевский хирургический барак. В 1893 году ее заместитель (товарищ попечительницы), Мария Александровна Сольская² внесла в общину 3000 руб. для содержания в хирургическом бараче кровати имени Евгении Максимилиановны, приурочив свое деяние к празднованию 25-летия со дня бракосочетания принцессы. В ознаменование этого же события неизвестное лицо пожертвовало государственными процентными бумагами 350 руб. для учреждения на проценты с этого капитала в Петербургской школе Санкт-Петербургского женского патриотического общества стипендии для приходящей ученицы имени принца Александра Петровича и принцессы Евгении Максимилиановны Ольденбургских.

Лейб-медик С. П. Боткин искал пути создания в России среднего медицинского персонала, одновременно был активным соучастником процесса становления женского образования. По его инициативе при Общине Св. Георгия создаются курсы фельдшерниц, и уже осенью 1878 года И. П. Павлов, его однокашник и будущий директор ИИЭМ С. М. Лукьянов, многие другие сотрудники Императорской медико-хирургической академии начинают здесь преподавать. Для будущего Нобелевского лауреата это был первый опыт чтения лекций. По всей видимости, именно здесь зародилась взаимная симпатия и глубокое уважение А. П. Ольденбургского и И. П. Павлова, которую они пронесли через всю жизнь [14].

Принцесса Е. М. Ольденбургская стала Попечительницей Общины сестер милосердия Святой Евгении (рис. 4), которая была названа в ее честь. Община возникла на основе образованного в 1882 году Попечительского комитета о сестрах Красного Креста. Через некоторое время на Старорусской улице Комитетом были заложены больничные павильоны и здание для курсов медсестер, открыто общежитие



Рис. 4. Именной нагрудный жетон члена Попечительского комитета Общины сестер милосердия Святой Евгении.

для сестер милосердия. В 1885 году при общежитии открылись курсы для желающих посвятить себя уходу за больными. Евгения Максимилиановна приняла Попечительский комитет и его учреждения под свое покровительство 3 января 1887 года. Деятельность общины без промедления расширилась — открылись амбулатория, аптека, лаборатория, убежище для престарелых сестер милосердия на 25 призреваемых. К 1904 году число последних выросло до 50 человек, а само убежище получило имя императора Александра III. В день 25-летия бракосочетания Е. М. Ольденбургской и А. П. Ольденбургского 7 января 1893 года Общежитие для сестер милосердия было переименовано в Общину Святой Евгении. Ныне в комплексе зданий Общины располагается больница № 46 Святой Евгении (рис. 5).

Общество имело свое издательство, где под руководством принцессы Е. М. Ольденбургской публиковались путеводители по Эрмитажу, Павловску, Костроме, Петербургу. Издательство одним из первых в России стало выпускать художественные (иллюстрированные) открытые письма (открытки). В 1898 году они поступили в продажу [15]. За 20 лет удалось

¹ Урожденная графиня Зубова, статс-дама, общественный деятель и благотворитель. Кавалерственная дама ордена Св. Екатерины. Ее вторая дочь Мария (1863–1939) была женой графа С. Д. Шереметева.

² Супруга председателя департамента государственной экономики графа, действительного тайного советника I класса Д. М. Сольского (1833–1910), избранного Советом ИЭМ Почетным членом 17 декабря 1901 года. После утверждения избрания Императором Николаем II ему был вручен диплом за № 7.

выпустить 6500 наименований открыток общим тиражом более 30 миллионов экземпляров. Акварельные изображения выполняли многие известные художники — И. Е. Репин, Е. М. Васнецов, А. Н. Бенуа, К. Е. Маковский. Вышла серия открыток с репродукциями из Третьяковской галереи, Румянцевского музея, Эрмитажа. На средства Евгении Максимилиановны изданы также таблицы, иллюстрирующие оказание первой помощи при несчастных случаях до прибытия врача, и другие пособия медицинской направленности. Полученные от реализации изданий средства шли на нужды Общины Святой Евгении и ее подопеч-

как почетному члену ИИЭМ. В документах фонда 2282 Центрального государственного архива Санкт-Петербурга (ЦГИА СПб), посвященных ИИЭМ, вплоть до начала 1910-х годов, регулярно и чаще других встречаешь подпись Евгении Максимилиановны как исполняющей обязанности Попечителя. Анализ принятых супругами решений позволяет отнести их, выражаясь современным языком, к эффективным менеджерам. При этом уместно отметить, что фундаментальный Оксфордский словарь английского языка в первую очередь определяет менеджмент как «способ, манеру общения с людьми».



Рис. 5. Комплекс зданий Общины сестер милосердия Святой Евгении в наши дни. Старорусская улица, дом 3. Фото автора, апрель 2015 года.

ных. Это начинание принцессы пережило Октябрьскую революцию — в 1920 году издательство реорганизовали в Комитет по популяризации художественных изданий, который продолжил свою деятельность.

Обязанности Попечителя не являлись синекурой. Он был высшим управляющим всеми делами Института, «главным начальством», как указывалось во Временном Уставе [1]. Говоря современным языком — генеральным директором. Только Попечитель имел право входить в высшие административные инстанции страны. Без его утверждения не могло быть реализовано ни одно решение, касающееся внутренней жизни Института. Попечителю принадлежало право приема на работу и увольнения сотрудников, командирования их как внутри страны, так и за границу. По его решению назначался директор Института, закрывались или создавались научные подразделения. Именно Попечитель активно подыскивал людей, которые могли финансировать те или иные проекты Института, причем благотворитель по ходатайству Попечителя перед императором мог получить звание члена-сотрудника. Естественно, что принцу А. П. Ольденбургскому нередко доводилось продолжительное время отсутствовать, представляя и как человек государственного уровня, и как член императорской фамилии. В таких случаях «с высочайшего Государя Императора соизволения» управление передавалось одному из ведущих ученых или супруге,

Перед началом Первой мировой войны тяжелая болезнь окончательно приковала принцессу к постели. А потом пришла Февральская революция. Принц А. П. Ольденбургский подал в отставку со всех занимаемых постов. Соответствующие действия предприняла и принцесса. В апреле они приняли решение оставить Россию. На прощание супруги получали письма от учреждений благодарственные письма от патронируемых ими учреждений. Приведем одно из них [16].

ВАШЕ ИМПЕРАТОРСКОЕ ВЫСОЧЕСТВО

С соизволения ВАШЕГО ВЫСОЧЕСТВА переходя в ведение Российского Общества Красного Креста, Свято-Троицкая Община Сестер Милосердия имеет душевную потребность принести ВАШЕМУ ВЫСОЧЕСТВУ чувство глубокой благодарности за ВАШИ оказанные Общине благодеяния.

Под ВАШИМ Высоким покровительством жизнь сестер протекало мирно и спокойно в работе и труде; одобряемые милостивыми и ласковыми словами ВАШЕГО ВЫСОЧЕСТВА сестры трудились неустанно и бодро, всегда уверенные в поддержке ВАШЕГО ВЫСОЧЕСТВА во всех своих нуждах.

В сей час отъезда из Петрограда примите ВАШЕ ВЫСОЧЕСТВО от нас сестер слезно приносимое ВАМ благоговейное чувство, любовь и благодарность за все милости и заботы, которыми мы поль-

зовались, живя в Общине, под ВАШИМ покровительством.

Мы все молим Господа Бога — да пошлет Он ВАШЕМУ ВЫСОЧЕСТВУ, в воздаяние ВАШЕГО 49-летнего руководства сестер в служении страждущему человечеству, тихую, спокойную жизнь еще на многие лета.

Петроград, 11^{го} апреля 1917 г.

В то же день Евгения Максимилиановна поблагодарила телеграммой «...всех сестер за милое письмо и выраженные чувства».

Весной 1917 года супруги перебрались в имение Рантанлинна на берегу озера Сайма (Иматра, Финляндия). Дача прекрасно сохранилась до наших

дней. Маркку Левасвирта и Кайсу Миеттинен с 1990 года превратили ее в гостиничный комплекс «Замок-отель Рантанлинна». В 2008 году они продали дачу и земельный участок, причем обязательным условием была национальность покупателя — русский. Сегодня здесь хранятся родовые гербы Ольденбургских и Лейхтенбергских, многие предметы интерьера, такие как маленький столик и фарфоровые лягушки — свадебный подарок короля Египта. Когда стало ясно, что в Россию вернуться не удастся, чета Ольденбургских переехала во Францию, в окрестности Сер Жан де Люз вблизи г. Биарицц¹, где они в 1922 году приобрели виллу «Machelon». Три года спустя Евгения Максимилиановна скончалась, лишь на один год пережив сына.

Литература

1. Временный устав Императорского Института Экспериментальной Медицины. — 1891. — 19 с.
2. Сапронов Н. С., Голиков Ю. П. Попечитель Императорского Института экспериментальной медицины принц Александр Петрович Ольденбургский. — СПб.: Росток, 2010. — 240 с.
3. Мазинг Ю. А. Семья «русских» Ольденбургских (продолжение) // Пространство и время. — 2011. — № 2 (4). — С. 216–228.
4. Мазинг Ю. А., Андриюшкевич Т. В. Создание института, подобного Пастеровскому в Париже (к 125-летию указа Императора Александра III) // Вестник СПб университета. — 2013. — Сер. 11, вып. 4. — С. 226–254.
5. Анненкова Э. А. Принцессы Ольденбургские. — М.: Изд. Дом ТОНЧУ, 2014. — 784 с.
6. Tantzen R. Das Schickal des Hauses Oldenburg in Russland // Oldenburger Jahrbuch. Oldenburg. — 1960. — Vol. 1. — P. 40.
7. Мемуары графа С. Д. Шереметева / сост. Л. И. Шохина. — М.: Индрик, 2001. — 735 с.
8. Мазинг Ю. А., Андриюшкевич Т. В. Принцы Ольденбургские и образование в России [Электронный ресурс] / Ю. А. Мазинг, Т. В. Андриюшкевич // Электронное научное издание Альманах Пространство и Время. — 2015. — Т. 8. Вып. 1: Пространство и время образования — Стационарный сетевой адрес: 2227-9490e-aprovv_e-ast8-1.2015.33.
9. Записка принцессы Евгении Максимилиановны Ольденбургской о предстоящем преобразовании учебного курса женских гимназий. — СПб.: паровая скоропечатня П.О. Яблонского, 1893. — 18 с.
10. Хижин П. П. Исторический очерк деятельности Рамонской лечебницы ЕИВ принцессы Е. М. Ольденбургской. — Воронеж, 1893. — 37 с.
11. Демина И. С. Благотворительная деятельность семьи принцев Ольденбургских в России. XIX — начало XX вв.: дис. ... ст. канд. ст. наук. — СПб., 2006. — 206 с.
12. Бунин И. А. Его Высочество // Воспоминания. — Париж, 1950. — С. 130–140.
13. Исторический очерк Общины сестер милосердия Святого Георгия в Санкт-Петербурге за двадцатипятилетие (1870–1895). — СПб.: Тип. М. Меркушева, 1895. — 238 с.
14. Виноградов Ю. А., Голиков Ю. П., Мазинг Ю. А. Принц Александр Петрович Ольденбургский и Иван Петрович Павлов [Электронный ресурс] // Вестник Биологической психиатрии (Электронный бюллетень Российского общества биопсихиатрии и Украинского общества биологической психиатрии). — 2004. — № 1. — 5 с.
15. Обзор художественных изданий общины святой Евгении. — СПб.: Т-во Р. Голике и Авальборг, 1909. — 18 с.
16. Центральный Государственный исторический архив Санкт-Петербурга (ЦГИА СПб). Фонд 203. Опись 1. Ед. хр. 4 «О назначении по высочайшим повелениям Их Императорских Высочеств: Принца Петра Георгиевича Ольденбургского Попечителем Общины, а Княгини Евгении Максимилиановны Принцессы Ольденбургской — Председательницей Комитета». На 31 л.

Поступила в редакцию: 30.04.2015 г.

Контакт: Мазинг Юрий Андреевич, pooiem@mail.ru

Сведения об авторе:

Мазинг Юрий Андреевич — д. б. н., заведующий лабораторией истории медицины ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

¹ Город расположен на юго-западе Франции, в 35 километрах от границы с Испанией, климатологический и бальнеологический курорт.

АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

УДК 616-085.2/.3

ГЛУТАМИН И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ В КОРРЕКЦИИ
МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ
ПАЦИЕНТОВ^{1,4}*V. M. Luft*, ⁴*A. V. Dmitriyev*, ^{3,5}*N. V. Sizova*, ^{2,3,5}*академик РАН Н. А. Беляков*¹Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе,
Санкт-Петербург, Россия²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия³Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,
Санкт-Петербург, Россия⁴Региональная Северо-Западная Ассоциация парентерального и энтерального питания, Санкт-Петербург, Россия⁵Санкт-Петербургский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями,
Санкт-Петербург, РоссияGLUTAMINE AND ITS DERIVATIVES FOR CORRECTION OF METABOLIC
DISORDERS IN HIV PATIENTS^{1,4}*V. M. Luft*, ⁴*A. V. Dmitriyev*, ^{3,5}*N. V. Sizova*, ^{2,3,5}*full member of the RAS N. A. Belyakov*¹I. I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Care, St. Petersburg, Russia²Institute of Experimental medicine, St. Petersburg, Russia³I. P. Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg, Russia⁴Regional Northwest Association of parenteral and enteral nutrition, St. Petersburg, Russia⁵St. Petersburg center for the prevention and control of AIDS and infectious diseases, St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2015 г.

У ВИЧ-инфицированных пациентов снижается содержание глутамина в организме в результате ускорения метаболизма иммунных клеток. По мере прогрессирования заболевания у больного ВИЧ-инфекцией наблюдается прогрессирующая потеря массы тела, которая усугубляется присоединением оппортунистических инфекций, лихорадки, анорексии, диареи и мальабсорбции. Это состояние коррелирует со снижением содержания в организме глутамина. Дефицит глутамина служит причиной начальной иммунной активации репликации вируса иммунодефицита и может играть роль постоянного (хронического) иммунного активатора даже после полного подавления вируса в организме. Применение препаратов глутамина у пациентов с ВИЧ-инфекцией приводит к улучшению общего самочувствия, снижению нейротоксических проявлений, повышению двигательной активности.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, глутамин, синдром истощения, мальабсорбция, дипептиды L-глутамина.

Glutamine content is decreased in HIV patients because of its increased metabolizing by cells of the immune system. The progression of HIV infection is associated with body weight loss in patients. This loss is aggravated by opportunistic infections associated with fever, anorexia, diarrhea and malabsorption and correlates with decreased glutamine content. Glutamine deficiency facilitates the initial immunity-mediated multiplication of HIV and may lead to perpetual (chronic) activation of the immune system even after the complete suppression of HIV. Treating HIV patients with glutamine preparations results in improved sensation, decreased neurotoxic phenomena, and increased motor activity.

Key words: HIV infection, glutamine, cachexia, malabsorption, L-glutamine dipeptides.

Введение. Как показывают исследования последних лет, изменение метаболизма глутамина у ВИЧ-инфицированных пациентов играет важную роль в прогрессирующем развитии и прогнозе СПИДа. Глутамин участвует в регуляции клеточных функций, лимфоцитов и моноцитов, что предполагает суще-

ственное изменение состояния многих систем и органов в условиях инфицирования вирусом иммунодефицита [1].

Глутамин в регуляции функции клеток иммунной системы [1, 2]:

- *Регуляция клеточных функций:*

- прекурсор пурина и пиримидина;
- прекурсор глутатиона;
- участвует в метаболизме L-аргинина и окислов азота;
- регулирует размер клеток за счет осмосигнальной функции;
- стимулирует образование белков теплового шока Hsp;
- стимулирует АМР-активируемый протеинкиназный путь;
- активирует внеклеточные сигнал-регулируемые киназы.
- *Регуляция функции лимфоцитов:*
 - стимулирует Соп-А- и РНА-индуцируемую пролиферацию;
 - активирует экспрессию CD25, CD71 и CD45RO;
 - стимулирует секрецию интерферона гамма;
 - стимулирует лимфокин-активированные клетки-киллеры;
 - угнетает апоптоз;
 - стимулирует кишечный иммунитет (GALT);
 - увеличивает пропорцию природных клеток-киллеров в селезенке.
- *Регуляция функции моноцитов:*
 - стимулирует синтез РНК;
 - увеличивает секрецию интерлейкина I (IL-1);
 - стимулирует фагоцитоз опсонизированных *E. coli* и оксидизированных эритроцитов;
 - стимулирует представление антигенов;
 - усиливает экспрессию поверхностных антигенов;
 - влияет на процессы дифференциации;
 - усиливает антиоксидантную защиту.

Систематическое изучение изменений метаболизма этой аминокислоты при различных патологических состояниях позволило сформулировать концепцию «нутритивных» и «ненутритивных» эффектов L-глутаминна как основы для дальнейшего его использования в качестве средств коррекции метаболических нарушений в условиях критических состояний [1, 2].

Под нутритивными эффектами глутаминна подразумевается способность формирования условий для адекватной нутриционной поддержки (предшествующее, текущее и последующее парентеральное и/или энтеральное питание) пациентов с целью предупреждения угрозы развития синдрома истощения (СИ). Ненутритивными фармаконутриентными эффектами глутаминна являются поддержание нормальной иммунной функции, клеточных метаболических процессов, способности противодействовать инфекционным осложнениям. Вышеназванные возможности L-глутаминна резко снижаются в условиях

ВИЧ-инфицирования, которое может рассматриваться как растянутый по времени нарушений хронический метаболический процесс. Периодическое обострение воспалительного процесса, связанное с присоединением сопутствующих или оппортунистических инфекций, служит основанием для госпитализации, в том числе в отделение интенсивной терапии [3]. Лечение ВИЧ-инфицированных пациентов может потребовать госпитализации по ряду причин: острая пневмония, сепсис, дисфункция ЦНС, желудочно-кишечные кровотечения и др. В зависимости от проводимой терапии значимость указанных причин может меняться [4].

Весьма важно, что ведение тяжелых больных в отделениях интенсивной терапии практически не отличается от принципов и схем лечения других (не ВИЧ-инфицированных) пациентов в критических состояниях, где доказана положительная роль глутаминна и его препараты включены в основные схемы их лечения. Единственным, но существенным фактором отличия является проводимая антиретровирусная терапия (АРВТ). И поэтому любые лечебные мероприятия, включая коррекцию метаболизма L-глутаминна, должны рассматриваться в контексте АРВТ.

Нарушение питания, дефицит нутриентов и синдром истощения (СИ). У пациентов с ВИЧ/СПИД нарушается абсорбция пищевых компонентов в кишечнике (макро- и микронутриентов) и повышается проницаемость слизистой оболочки вне зависимости от наличия или отсутствия диареи и потери веса, а также применения АРВТ [5–7]. Ведущим механизмом является повреждение интегративной функции клеток слизистой оболочки кишечника в условиях иммунодефицита. Роль диареи у ВИЧ-инфицированных пациентов определяется уменьшением абсорбционной поверхности кишечника [8]. Одним из важнейших механизмов ее развития считается дефицит глутаминна в тканях и органах.

Установлено, что ВИЧ-инфекция вызывает дефицит глутаминна, вероятно по причине ускорения метаболизма иммунных клеток в острой и хронической стадиях течения инфекции [9]. Содержание глутаминна в организме снижается у ВИЧ-инфицированных больных даже при бессимптомном течении заболевания. По мере прогрессирования болезни и перехода ее в стадию СПИДа наблюдается прогрессирующая потеря тощей массы тела, что усугубляется присоединением оппортунистических инфекций, лихорадки, анорексии, диареи и мальабсорбции. Это состояние коррелирует со снижением содержания в организме глутаминна [9].

Обобщение фактов изменения метаболизма глутаминна при возникновении ВИЧ-инфекции дано

в работе Н. Macintosh (2007) (далее приводятся схемы и выводы из этой работы) [10].

Хронический дефицит глутамина в условиях ВИЧ-инфекции. ВИЧ-инфицированные люди представляют собой категорию пациентов с высоким уровнем иммунной активации, организм которых зачастую не способен продуцировать достаточное количество глутамина для обеспечения возросших потребностей иммунной системы в данной условно незаменимой аминокислоте. Это ведет к развитию ее хронического дефицита и перераспределению в организме по сравнению со здоровыми людьми (схема 1).

— выведения продуктов катаболизма протеинов из организма.

Хроническая иммунная активация — источник клеточного стресса и повреждения при возникновении ВИЧ-инфекции. Иммунная активация в хронической стадии ВИЧ-инфекции — важнейший фактор прогрессии нарушения иммунной функции. Иммунная активация при ВИЧ-инфекции — массивное и нескоординированное высвобождение химических веществ, в том числе цитокинов, обладающих сигнальными функциями, чрезмерный «гиперответ» в виде системного воспаления. У мно-

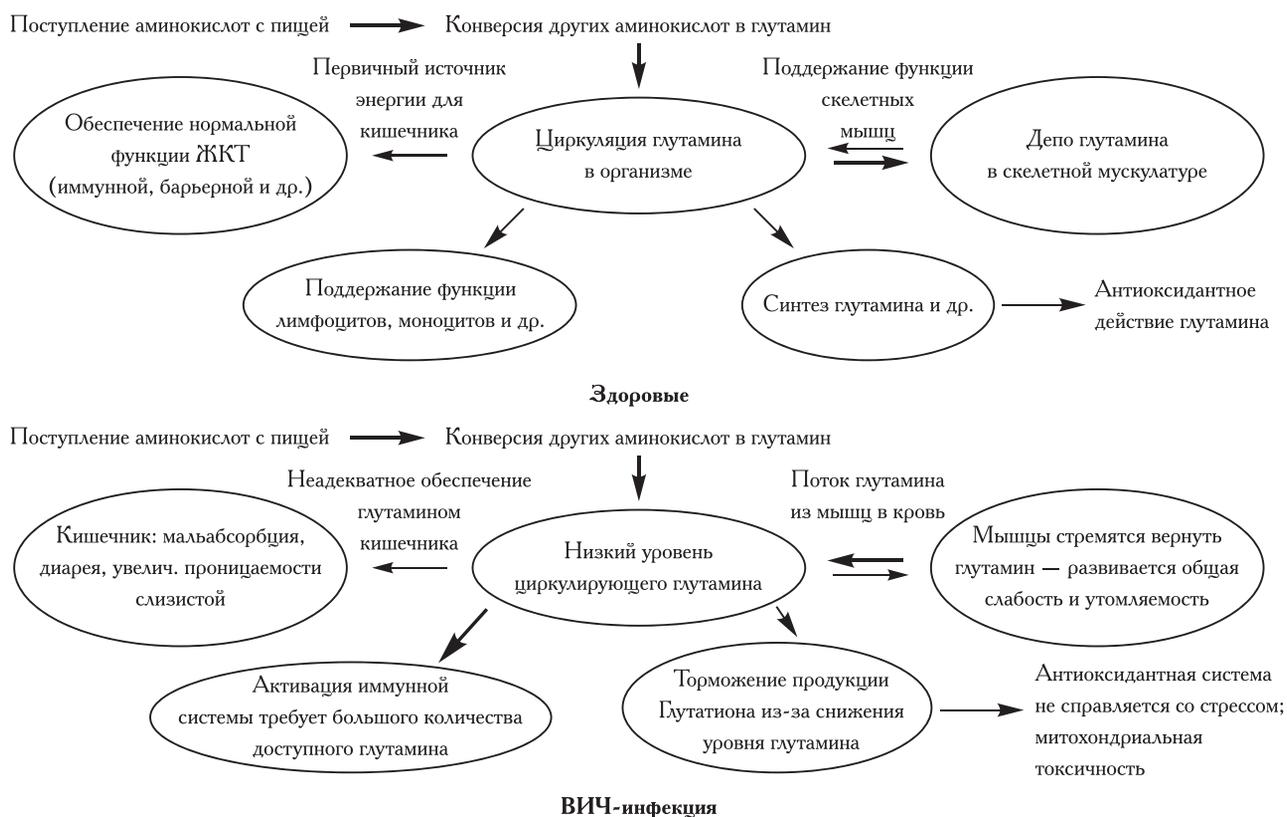


Схема 1. Распределение глутамина в организме здоровых людей и в условиях ВИЧ-инфицирования [10].

В дальнейшем отмечаются снижение мышечной массы, развитие мальабсорбции, диареи и разрушение антиоксидантной системы.

В клиническом плане хронический дефицит глутамина выражается в неспособности организма в полной мере выполнять ряд функций:

- поддержания адекватных запасов в скелетных мышцах;
- обеспечения энергией многих компонентов иммунной системы, таких как CD4-клетки, лимфоциты и макрофаги;
- сохранения запасов внутриклеточных антиоксидантов, в частности глутатиона;
- поддержания абсорбционной способности слизистой оболочки кишечника;

гих пациентов активация иммунной системы не нормализуется после подавления активности ВИЧ.

Сохранение иммунной активации после супрессии ВИЧ обусловлено лимфоидной тканью тонкой кишки (ассоциированная с кишечником лимфоидная ткань). В условиях ВИЧ нарушается интегративная связь между клетками этой ткани, что повышает вероятность транслокации бактерий и развития системного воспалительного ответа. Токсичные продукты жизнедеятельности грамотрицательных бактерий, известные как липополисахариды, высокоиммуногенны и постоянно активируют иммунную систему. Эти факторы во многом определяют положительное действие глутамина в отношении иммунокомпетентной лимфоидной ткани кишечника.

Развитие порочного круга дефицита глутамина в условиях ВИЧ-инфекции. Дефицит глутамина служит причиной начальной иммунной активации репликации вируса иммунодефицита и может играть роль постоянного (хронического) иммунного активатора даже после полного подавления вируса в организме. В нормальных условиях любая иммунная активация после обычной вирусной инфекции сменяется нормализацией иммунной функции. В случае же ВИЧ-инфекции уровень иммунной активации достигает такой силы, что приводит к выраженному дефициту глутамина в кишечнике даже при отсутствии бактериальной транслокации. Это создает самовоспроизводящийся цикл иммунной активации с сопутствующими и последовательно нарастающими: дефицитом глутамина, транслокацией бактерий из кишечника в лимфатическую систему и далее в кровь, еще большим дефи-

инфекции отчетливо доказано, что дефицит глутамина приводит к мальабсорбции, снижению тощей массы тела, уровня глутатиона и ухудшению функции лимфоцитов. Мальабсорбция отмечается у 50% пациентов без наличия каких-либо симптомов нарушения функции ЖКТ и нарастает по мере развития заболевания, достигая частоты 90% от общего числа инфицированных пациентов. Мальабсорбция развивается на фоне дефицита глутамина, повышения потребности в этой аминокислоте за счет иммунной активации в сочетании со снижением ее запасов в организме и способности организма ее продуцировать в соответствии с возросшими потребностями. В свою очередь, дефицит глутамина приводит к резкому снижению снабжения клеток энергией и протеинами за счет потери способности тонкого кишечника адекватно абсорбировать нутриенты, такие как углеводы, жиры, белки, витами-

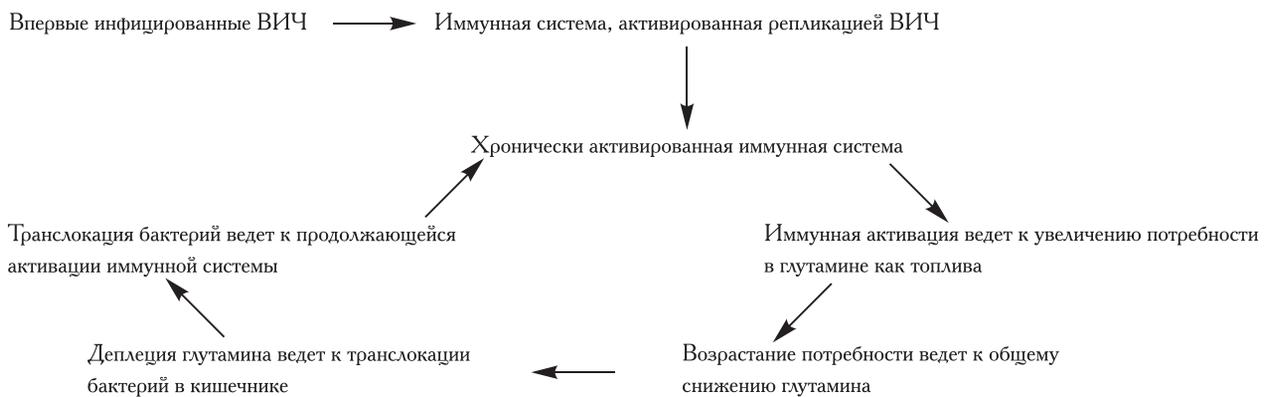


Схема 2. Вклад снижения уровня глутамина в развитие порочного круга иммунной активации [10].



Схема 3. ВИЧ-терапия и дополнение количества глутамина повышают иммунную активацию [10].

цитом глутамина, еще большей иммунной активацией. Таким образом, порочный круг (цикл) замыкается (схема 2). Присоединение оппортунистических инфекций еще больше усугубляет процесс, отражая системное поражение внутренних органов. Глутамин способствует стабилизации иммунитета (схема 3).

Мальабсорбция, диарея и синдром истощения (СИ) при ВИЧ-инфекции. В условиях ВИЧ-

ны и минералы. Диарея в сочетании с мальабсорбцией в дистальных отделах тонкого кишечника приводят к неполному всасыванию нутриентов. Различные бактерии, живущие в дистальном отделе тонкого кишечника и в толстой кишке, поглощают эти неабсорбированные нутриенты с образованием газов и других продуктов метаболизма, что сопровождается жидким и частым стулом.

Синдром истощения (СИ) при ВИЧ-инфицировании — совокупность расстройств, проявляющихся в конечном итоге потерей тощей массы тела [11]. СИ определяется как потеря массы тела более 10% с лихорадкой и/или диареей неизвестного происхождения (Centers for Disease Control and Prevention, 1993), хотя некоторое снижение массы тела может наблюдаться и в отсутствие этих симптомов. С момента появления термина «синдром истощения» в качестве причин его возникновения назывались различные причины: дефицит тестостерона, плохой аппетит, депрессия, курение, применение лекарственных средств, дефицит гормонов, хронические инфекции и ряд других [11].

ВИЧ-инфицированные пациенты имеют существенно сниженный уровень глутамин в скелетных мышцах и очень слабое его возмещение в организме после еды по сравнению с ВИЧ-негативными людьми. Кроме того, опустошение запасов глутамин в скелетной мускулатуре сопровождается быстрым использованием его другими органами, что приводит к ненормально низкой концентрации этой аминокислоты в крови. Неадекватное поступление глутамин с пищей также вносит свой вклад в снижение уровня циркулирующего вещества в крови. При этом изменение метаболизма глутамин имеет определенную корреляцию со стадийностью (фазностью) развития ВИЧ/СПИДа и нутритивной недостаточности.

Нарушение функции нервной системы при ВИЧ-инфекции и роль глутамин. За последние 20 лет вышло много работ, посвященных влиянию ВИЧ-инфекции на функцию нервной системы [12–16]. Уже на ранних стадиях возникновения системной ВИЧ-инфекции отмечаются поражения головного мозга и его оболочек. Вирусная агрессия и иммунные реакции являются метастатическими, поскольку они представляют собой транслокацию инфицированных вирусом клеток организма и иммунных клеток из системной циркуляции в мозг [4, 12]. Последовательно развиваются и поражения периферической нервной системы в виде нейропатий различной локализации и степени выраженности. Выделяют следующие виды нарушений функции нервной системы, терминологически обозначенные как: нейрокогнитивные расстройства, различные по тяжести (HAND-синдром), ВИЧ-энцефалопатия, вакуолярная миелопатия, периферические нейропатии, и ряд состояний опосредованного характера [17–19].

В деятельности мозговой ткани важную роль играет «глутамат-глутаминовый цикл» [20]. Глутаминовая кислота — важный возбуждающий нейротрансмиттер в ЦНС [21]. На основе аффинитета к постсинаптическим рецепторам идентифици-

ровано три типа глутаматных рецепторов. Глутаматергические нейроны опосредуют многие жизненно важные функции, включая кодирование информации, память и т. д. Избыточное возбуждение (перевозбуждение) этих рецепторов приводит к патологическим изменениям: гипоксии, гипогликемии, инсульту и эпилепсии. Хорошо изученный за многие годы глутамат-глутаминовый цикл — центральный для понимания метаболизма глутамата [11, 22, 23]. Условно цикл начинается с высвобождения глутамата в пресинаптических мембранах нейронов [24]. Далее он выходит в синаптическую щель, взаимодействует с постсинаптической мембраной и утилизируется (постсинаптически, обратно пресинаптически или во внеклеточных тканях). Активен обратный его захват пресинаптическими мембранами, но этот механизм менее важен, чем его натрий-зависимый транспорт в астроциты [25, 26]. В астроцитах глутамат превращается в глутамин с помощью глутаминсинтетазы [11, 27].

Поступление глутамин в нейроны обеспечивается двумя путями: натрий-зависимым и натрий-независимым [28, 29]. В целом глутамат-глутаминовый цикл обеспечивает: быстрый возврат глутамата из синапса; конверсию в астроцитах глутамата в глутамин; механизм восстановления глутамата в нейрональной ткани; обеспечение нейронов метаболическим субстратом; «буферизацию» аммиака — потенциально токсичного вещества — через глиальный глутамин-синтетазный путь.

Нейрональные повреждения при ВИЧ-инфекции возникают в основном за счет хронической активации мозговой ткани как результата воспаления, окислительного стресса и глутамат-обусловленной нейротоксичности [30]. Токсическое действие глутамата опосредуется двумя путями: токсическое возбуждение, при котором рецепторы глутамата гиперактивированы, и окисление (окислительный стресс), когда каналы цистина (более устойчивая алифатическая серосодержащая форма аминокислоты цистеина) блокируются, приводя к снижению уровня глутатиона. В дальнейшем развивается клеточная дегенерация.

В ряде исследований показано, что астроциты в норме захватывают глутамат, снижая его внеклеточную концентрацию в мозге, и предотвращают токсическое возбуждение. В процессе метаболизма астроциты обеспечивают мозг трофической аминокислотой глутамином за счет экспрессии глутаминсинтетазы. Этот трофический и защитный эффект угнетается при ВИЧ-инфицировании, возможно за счет влияния медиаторов воспаления и вирусных протеинов.

Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что активированная микроглия и макрофаги мозга выделяют

переносчики и ферменты глутаматного цикла. Это позволяет предположить, что в дополнение к их способности определять наличие нейротоксичности при ВИЧ-инфицировании, эти клетки сами обладают нейротропными свойствами, которые могут частично компенсировать угнетенную функцию астроцитов. Суммарный дефицит глутамата в мозге при ВИЧ-инфицировании во многом определяет симптоматику, описанную выше.

Дефицит глутамата и болевой синдром при ВИЧ-инфекции. Болевой синдром, который часто сопровождается клиническим течением ВИЧ-инфекции, является с одной стороны, проявлением периферических нейропатий, а с другой — сочетанным влиянием инфекции и применения АРВТ [31, 32]. На ранних стадиях заболевания, когда количество CD4-клеток (показатель прогрессии заболевания) >500 ед/л, примерно у 30% амбулаторных пациентов отмечаются клинически значимые боли. При развитой форме заболевания (количество CD4 <200 ед/л), когда присоединяются оппортунистические инфекции и развивается малигнизация (ставится диагноз «СПИД»), болевой синдром становится общей проблемой и наблюдается у 50–75% больных. Дефицит глутамата в афферентных нервных структурах (чувствительные окончания и проводники), особенно в условиях применения химиотерапевтических препаратов, вносит свой вклад в создание условий для гиперсенситизации возникновения спонтанных болевых ощущений в конечностях [33]. Некоторые типы АРВ-препаратов, особенно нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, могут усугублять эти явления. Морфологические исследования показали, что в этих условиях (хронические нейропатические боли на протяжении 6–12 мес) наблюдаются повреждения нервных чувствительных окончаний и проводников.

В настоящее время контроль болевого синдрома при ВИЧ/СПИД рассматривается как важная часть паллиативной помощи этой категории пациентов. Поскольку стандарты и протоколы лечения болевого синдрома при ВИЧ включают применение опиатных анальгетиков [34], представляется весьма важной способностью глутамата и его дипептидов предупреждать развитие толерантности и зависимости к этим препаратам паллиативной помощи [35]. Важность такого подхода подчеркивается недавними данными о способности морфина усиливать нейротоксическое действие ВИЧ-инфекции [36]. Вирус иммунодефицита не инфицирует непосредственно нейроны, но протеины вируса, такие как трансактиватор транскрипции и гликопротеин 120 из инфицированной глиальной ткани, — нейротоксичны. Глиальная ткань (астроглия, микроглия), как предпо-

лагается, является местом синергичного нейротоксического действия морфина и ВИЧ-инфекции.

Таким образом, ослабляя действие опиатов, глутамин потенциально может уменьшать их токсическое действие на нейроны и синергизм с нейротоксическим влиянием ВИЧ.

АРВТ и дефицит глутамата. Как показывают многочисленные исследования [37–39], некоторые АРВП оказывают негативное влияние на функцию кишечника, самостоятельно вызывая диарею, нарушение всасывания нутриентов и их дефицит в организме. В сочетании со сходными эффектами ВИЧ-инфекции, АРВТ, наряду с подавлением вируса в организме, может усиливать негативные явления в ЖКТ. Этот факт имеет большое значение в плане определения качества жизни пациентов и прогноза [40]. При этом АРВТ не влияет на дефицит глутамата, вызываемый ВИЧ-инфекцией, о чем косвенно свидетельствует позитивное влияние добавление глутамата в состав адьювантной терапии ВИЧ-инфекции на функцию кишечника, всасывание нутриентов и сам эффект АРВТ [40, 41].

L-глутамин и его производные в клинической практике. *Дипептиды L-глутамата.* О. Bushen и соавт. в своей работе 2004 г. «Диарея и снижение уровней антиретровирусных препаратов: улучшение при введении глутамата и аланил-глутамата» проанализировали результаты рандомизированного двойного слепого плацебоконтролируемого исследования у ВИЧ-инфицированных пациентов, в котором на фоне проводимой АРВТ использовались высокие пероральные дозы L-глутамата и L-аланил-L-глутамата [42]. В исследование был включен 41 ВИЧ-инфицированный пациент с проводимой АРВТ, у которого наблюдалась диарея (3-разовый стул в течение 14 дней) и синдром истощения — СИ (потеря 10% массы тела за 6 месяцев) при отсутствии активного туберкулеза, диссеминированной грибковой инфекции и малигнизации. Ключевыми точками исследования были: уменьшение симптомов диареи и потеря массы тела; изменение уровней АРВ-препаратов; величина кишечной проницаемости (экскреция с мочой лактулозы и маннитола, соотношение лактулоза/маннитол). Параллельно контролировались показатели крови и мочи. В режимах АРВТ использовались такие препараты, как зидовудин, ламивудин, ставудин, диданозин, нелфинавир, невирапин. Пациенты были рандомизированы в четыре группы: контрольная — глицин (46 г/день), группа с глутамином (30 г/день + 15 г глицина/день), группа с низкодозным дипептидом глутамата (L-аланил-L-глутамин 4 г/день + 42 г глицина/день), группа с высокодозным дипептидом

глутамин (L-аланил-L-глутамин 44 г/день), что обеспечивало изонитрогенность поступления добавок во всех группах. Общая длительность терапии составила 7 дней. Анализ полученных результатов позволил авторам работы сделать следующие выводы: глутамин и, особенно, дипептид аланил-глутамин в высоких дозах, способствуют уменьшению уровня РНК ВИЧ под влиянием АРВТ, что сопровождается более полным и длительным подавлением репликации ВИЧ; дипептид глутамин улучшает клиническое состояние у 89% пациентов, глутамин — у 38%; дипептид аланил-глутамин в высоких дозах оказывает дозозависимое положительное действие в отношении диареи; обе биологически активные формы глутамин останавливают и предупреждают потерю массы тела; глутамин (в 64% случаев) и дипептид аланил-глутамин (в 75% случаев) усиливают всасывание (абсорбцию) АРВ-препаратов; глутамин и дипептид аланил-глутамин дозозависимо увеличивают уровень АРВ-препаратов в организме больных (на 13% и 14% соответственно), в том числе при комбинировании препаратов. Особенно эффективно применение высоких доз дипептида аланил-глутамин (повышение уровня АРВ-препаратов на 113%).

R. D. Leite и соавт. (2013) провели рандомизированное двойное слепое плацебоконтролируемое исследование (46 ВИЧ-инфицированных пациентов, средний возраст $37,3 \pm 3$ года, 36 мужчин и 10 женщин) влияния 10-дневного перорального введения изонитрогенных доз L-аланил-L-глутамин (24 г/день, группа из 22 пациентов) в сравнении с плацебо (глицин, 25 г/день, группа из 24 пациентов) [8]. Отдельной оценке подверглись данные пациентов с предшествующей исследованию диареей ($n=9$). Хроматографически фиксировалась почечная экскреция лактулозы и маннитола до и после введения препаратов. Оценивались также следующие показатели (до начала лечения и на 11-й день после его окончания): антропометрические данные, состав форменных элементов крови, биохимия крови, количество CD4-клеток и вирусная нагрузка, тест кишечной проницаемости. На фоне введения дипептида глутамин отмечено значительное уменьшение диареи, увеличение экскреции маннитола и уменьшение экскреции лактулозы с мочой (показатели, характеризующие проницаемость кишечной стенки). Поскольку все пациенты получали АРВТ, изменения показателей, характеризующих течение инфекционного процесса, были примерно сходными в обеих исследованных группах. Авторы делают вывод, что у ВИЧ-инфицированных пациентов нарушения интегративной функции кишечника

и абсорбционной способности наиболее выражены при сопутствующей диарее. Введение L-аланил-L-глутамин улучшает интегративную функцию кишечника, абсорбцию и снижает диарею. Предполагается два основных направления положительного влияния L-глутамин в отношении кишечника ВИЧ-инфицированных: восстановление функционального состояния клеток слизистой оболочки и увеличение абсорбционной поверхности кишечника. При этом последовательность развития этих двух эффектов такова: в течение первой недели проявляется увеличение абсорбирующей поверхности кишечника (на фоне как L-глутамин, так и L-аланил-L-глутамин), а в более поздние сроки — восстановление барьерной функции слизистой оболочки [42].

Краткосрочное введение глутамин не способно существенно повлиять на предупреждение и развитие синдрома истощения (СИ) у больных ВИЧ/СПИД. В то же время более длительный курс лечения [43] глутамин (3 месяца, 40 г/день) приводит к увеличению массы тела ВИЧ-инфицированных в среднем на 2,2 кг, клеточной массы тела на 1 кг и возрастанию внутриклеточной воды.

L-глутамин и АРВТ. Высокоактивная АРВТ ассоциируется с развитием диареи и других побочных эффектов в отношении ЖКТ. Снижение этих проявлений может улучшать результаты лечения и повышать качество жизни пациентов. F. Huffman и M. Walgren (2003) показали, что L-глутамин (30 г/день) уменьшает выраженность диареи, обусловленной проведением АРВТ (нелфинавир), и улучшает качество жизни пациентов [41]. В работе C. Heiser и соавт. (2004) исследовалось влияние сочетания АРВТ (нелфинавир или лопинавир) и параллельного назначения нутритивной терапии с глутамин (30 г в день) в течение 12 нед 35 мужчинам с диареей (более двух жидких стулов в день) [40]. Получены положительные результаты в виде значительного уменьшения диареи, что позволило снизить дозу лоперамида.

Защитное действие L-глутамин в отношении диареи, вызываемой химиотерапевтическими препаратами для лечения ВИЧ-инфицированных, отражено и в международных Рекомендациях по проведению АРВТ в педиатрической практике (Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection, Developed by the HHS Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children. Office of AIDS Research Advisory Council (OARAC) последнее обновление 21.11.2012 г).

Нейропротективные и анальгетические свойства. Клиническая картина поражений нервной

системы носит сложный характер и определяется совокупностью расстройств метаболизма с развитием ВИЧ-энцефалопатии, полинейропатий с характерным болевым синдромом (БНА). Как показали Pires и соавт. (2011) на модели острого церебрального ишемического/реперфузионного повреждения, L-аланил-L-глутамин проникает в мозг при любом периферическом введении (ранее способность проникать в ЦНС через ГЭБ показана и для L-глутамин при энтеральном введении в высоких дозах). При внутривенной инфузии препарат снижает дегенерацию ядер нейронов и предотвращает клеточную смерть мозговой ткани. В 2014 году Nageli и соавт. уже в клинических исследованиях подтвердили значительное повышение содержания L-глутамин и L-аланина в мозговой ткани при продолжительной 24-часовой (5 дней) их внутривенной инфузии в высоких дозах (0,75 г/кг в сутки). Предполагается, что механизмом защитного действия в отношении мозговой ткани может быть усиление высвобождения глутатиона, который уменьшает действие свободных кислородных радикалов. Такой механизм может иметь большое значение в предотвращении центральных нейротоксических эффектов вируса иммунодефицита.

L-глутамин оказывает отчетливое противовоспалительное и болеутоляющее действие. Важно, что эти эффекты рассматриваются как результат прямого угнетающего действия аминокислоты на синтез простагландинов, что приближает ее к действию, в частности, фенилбутазона (нестероидный противовоспалительный препарат из группы бутилпиразолидонов). С. Li и соавт. [44] показали, что замещение в структуре бета-эндорфина глутаминовой кислоты в положении 8 глутамином приводит к трехкратному увеличению связывания этого лиганда с опиатными рецепторами, что может косвенно указывать на вовлеченность глутамин в центральные ноцицептивные и/или антиноцицептивные механизмы болеутоляющее действие, обусловленное непосредственным влиянием на центральные ноцицептивные механизмы, показано и для дипептидов L-глутамин. Так, L-глицил-L-глутамин — дериват бета-эндорфина (С-концевой фрагмент) и основной продукт метаболизма эндорфина в ЦНС [35]. L-Глицил-L-глутамин является концевым фрагментом и преобладающим дериватом β -эндорфина в целом ряде мозговых структур и в периферических тканях, хотя его физиологическая роль не до конца понятна [45, 46]. Будучи «легким» пептидом, L-глицил-L-глутамин проникает через гематоэнцефалический барьер, уменьшает гипотензию и кардиореспираторную депрессию, вызываемую опиатами, но не изменяет или усиливает их анальгетическую активность при периферическом

введении [47]. При этом снижается зависимость от опиатов и скорость развития толерантности к ним.

S. Savun и соавт. (2005) рассматривают L-глицил-L-глутамин в качестве весьма избирательного антагониста опиатов, проявляющего по механизму действия в ЦНС свойства нейротрансмиттера, а на периферии — как циркулирующего гормона [35]. Такая избирательность действия дипептида глутамин в случае ее подтверждения в клинической практике (включая педиатрию) может иметь существенное значение во всех ситуациях применения морфина и других опиатов для снижения побочных эффектов последних (в частности, развития гипералгезии) без изменения или усиления опиатной анальгезии.

L-глутамин в предотвращении и лечении синдрома истощения. Clark и соавт. (2000) в рандомизированном двойном слепом плацебоконтролируемом исследовании изучили влияние комбинации β -гидрокси- β -метилбутирата (3 г/день), глутамин и аргинина (по 14 г/день) на СИ, обусловленный

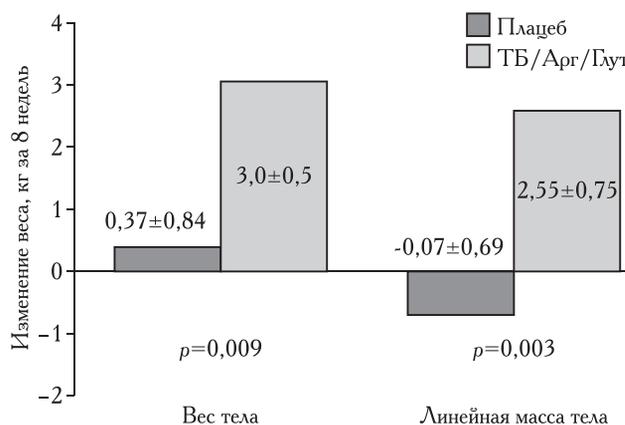


Рисунок. Изменение массы тела и линейной массы тела у ВИЧ-инфицированных пациентов на фоне применения комбинации аргинина, глутамин и метилбутирата.

ВИЧ-инфекцией [48]. На рисунке показано, что за 8 нед курсового применения указанной смеси наблюдалось значительное увеличение как общей, так и линейной массы тела.

L-глутамин в сочетании с пробиотиками был исследован S. Serrano-Villar и соавт. (2014) [49]. Предпосылки работы: дисбаланс кишечной микрофлоры, коррелирующий с процессами воспаления у ВИЧ-инфицированных пациентов (как леченных, так и нелеченных; способность пробиотиков влиять на эти процессы; результаты ряда предыдущих исследований, показавших положительное влияние нутритивных интервенций на качество жизни людей, больных СПИДом; повышение иммунитета слизистой оболочки кишечника, функции энтероцитов и кишечного барьера под влиянием глутамин.

Авторы показали, что нутритивная поддержка глутамином в сочетании с пробиотиками улучшает кардиоваскулярные показатели и уменьшает процесс воспаления у ВИЧ-инфицированных пациентов, а также приводит к позитивным изменениям иммунного ответа и уровней РНК в слизистой оболочке кишечника. Особенно эффективно лечение у пациентов со слабым ответом на АРВТ.

Принципы и схемы применения препаратов L-глутамина при лечении ВИЧ-инфекции. С целью повышения нутритивного статуса и устранения СИ принципы и схемы использования препаратов, содержащих глутамин, должны соответствовать таковым при использовании нутритивной поддержки ВИЧ-инфицированных в целом, и осуществляться в ее рамках. Они сформулированы в Рекомендациях ESPEN (42, ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Wasting in HIV and other chronic infectious diseases).

Принципы и схемы нутритивной поддержки ВИЧ-инфицированных пациентов (выдержка из Рекомендаций ESPEN 2006).

Показания:

- Нутритивная терапия показана при значительном похудении (>5% за 3 мес) или значительной потере клеточной массы тела (ВСТМ) (>5% за 3 мес).

- Нутритивная терапия может быть одобрена при индексе массы тела (ИМТ) <18,5 кг/м².

- Диарея и мальабсорбция не являются противопоказаниями, так как:

- диарея не предотвращает положительный эффект оральных пищевых добавок или зондового питания в отношении нутритивного статуса;

- энтеральное и парентеральное питание имеют сходные эффекты у таких пациентов;

- энтеральное питание положительно влияет на частоту стула и его консистенцию.

Применение. Может быть применено комбинирование обычной пищи и энтерального питания.

При возможности орального питания нутритивная поддержка может быть применена по следующей схеме:

- консультирование нутрициолога;
- оральные нутритивные добавки;
- зондовое питание;
- парентеральное питание.

Если нет возможности получить квалифицированную консультацию нутрициолога, оральные пищевые добавки могут быть показаны в дополнение к обычной пище, но ограничены во времени.

АРВТ и ЭП комплементарны друг другу.

В то же время применение препаратов L-глутамина при лечении ВИЧ-инфицированных, может преследовать нутритивные цели. Такие свойства глутамина и его дипептидов, как иммуномодулирующий эффект, восстановление антиоксидантной защиты организма, детоксицирующие свойства, нейропротективное действие и ряд других, позволяют использовать его дериваты вне системы нутритивной поддержки [1]. Предполагается предупреждение развития оппортунистических инфекций, восстановление нормального функционирования иммунной системы и других функций организма, описанных выше. Способы и схемы введения определяются стадией ВИЧ-инфекции, состоянием пациента, биодоступностью препарата (состояние кишечника) и некоторыми другими факторами. Последовательность выбора способа введения: пероральный — энтеральный зондовый — парентеральный. Выбор и учет всех вышеперечисленных факторов в совокупности с адекватной нутритивной поддержкой (обеспечение повышенных потребностей в пластических и энергетических материалах, витаминах и микроэлементах) определяют Концепцию ранней нутритивной поддержки ВИЧ-инфицированных пациентов.

В настоящее время выполняется ряд специальных исследований для глутамина, имеющих практическую направленность в плане лечения ВИЧ-инфицированных пациентов. К их числу относится Micro VIN (ClinicalTrials.gov Identifier:NCT01838915) — рандомизированное плацебоконтролируемое исследование сочетанного применения пребиотиков и глутамина у ВИЧ-инфицированных пациентов (Randomized Placebo-controlled Pilot Trial of Prebiotics+Glutamine in HIV Infection). Эта большая работа начата в 2011 году Университетской клиникой Рамон в Испании и характеризуется оценкой большого количества показателей: первичные точки исследования — 6-недельная оценка безопасности; изменение маркеров бактериальной транслокации, иммуноактивации, воспаления, эндотелиальной дисфункции; изменения микробного состава кишечника; вторичные точки исследования — прогрессия заболевания по основным клиническим и лабораторным показателям; функция тимуса; экспрессия генов в моноцитах периферической крови. Окончание исследования и подведение итогов планируется в 2015 году.

Влияние L-глутамина на тощую массу тела (ТМТ) и способность предотвращать развитие СИ у ВИЧ-инфицированных пациентов (прирост ТМТ на 1,8 кг в течение 12 нед ежедневного назначения в дозе 40 г/сут), сопоставимо с действием рекомбинантного гормона роста (rhGH) — одобренного FDA как наиболее эффективного препарата для лечения СИ при данном заболевании (те же сроки назначения и аналогичные цифры увеличения ТМТ, что и при использовании L-глутамина) [50]. При

этом соотношении затрат составляет 1 : 30 (31\$ для перорального глутамин, 1000\$ — для ghGH).

Таким образом, включение L-глутамин и его дериватов в комплекс нутритивной поддержки ВИЧ-инфицированных рассматривается как финансово-сберегающая технология в адьювантной терапии ВИЧ-инфицированных пациентов [43].

L-глутамин и глутаминовая кислота (L-глутамат). Глутаминовая кислота, в отличие от L-глутамин, не рассматривается в качестве средства адьювантной терапии ВИЧ-инфицированных пациентов (равно как и других критических состояний и заболеваний, характеризующихся преобладанием катаболических реакций). Вся доказательная база создана на основе исследований L-глутамин и его дипептидов и комбинаций. Подробная характеристика L-глутамин и L-глутамат, их метаболизма и роли в нормальных физиологических условиях и при патологии, изложена в обзоре Newsholme и соавт. (2003). Как известно, L-глутамин является важным прекурсором в процессе синтеза белка, аминокислот, пуриновых и пиримидиновых оснований, нуклеиновых кислот и др. Однако прямой продукт метаболизма L-глутамин в большинстве клеток — L-глутамат, образующийся под действием глутаминазы, находящейся в высоких концентрациях в митохондриях.

Принципиальным различием этих двух продуктов метаболизма является то обстоятельство, что L-глутамат (L-глутаминовая кислота) является наиболее распространенной внутриклеточной аминокислотой (ее концентрации варьируют от 2 до 20 ммоль), тогда как L-глутамин — наиболее распространенная аминокислота во внеклеточной жидкости *in vivo* (ее концентрация составляет 0,7 ммоль по сравнению с внеклеточной концентрацией L-глутамат 0,02 ммоль). Кроме того, L-глутамат с большим трудом проникает через клеточные мембраны при физиологическом pH 7,4, а уровень переносчиков глутамат внутрь клеток является достаточно низким, что делает проблематичным устранение внутриклеточного дефицита этой аминокислоты во многих органах и тканях при дополнительном экзогенном ее введении в организм. В противоположность этому, L-глутамин легко переносится внутрь клеток, включая во внутриклеточные метаболические процессы, в том числе через стадию образования L-глутамат. Но и внутриклеточные процессы метаболизма (как в качественном, так и в количественном отношении) L-глутамин и L-глутамат различаются. Только часть введенной экзогенно глутаминовой кислоты превращается в L-глутамин (по разным данным менее 20%). Значительная часть глутаминовой кислоты метаболизируется с образованием

ГАМК, орнитин и 2-оксоглутарата, которые не имеют свойств, характерных для L-глутамин.

Таким образом, включение в состав аминокислотных растворов для ПП L-глутаминовой кислоты (L-глутамат) даже в высоких концентрациях обеспечивает исключительно дополнительное количество элементов пластического материала, но не воспроизводит специфические вышеперечисленные положительные эффекты L-глутамин в отношении ВИЧ-инфекции и других критических состояний и заболеваний.

Заключение. Суммируя результаты выполненных исследований, можно сделать заключение относительно влияния препаратов глутамин на течение ВИЧ-инфекции и ее лечение АРВ-препаратами.

В отношении вируса: глутамин и, особенно, дипептид аланил-глутамин в высоких дозах, способствуют уменьшению уровня РНК ВИЧ под влиянием АРВТ, что сопровождается более полным и длительным подавлением репликации ВИЧ [42].

В отношении клинических и биохимических проявлений инфекции в организме: дипептид глутамин улучшает клиническое состояние у 89% пациентов, глутамин — 38% [42]. Это проявляется нормализацией общего самочувствия пациентов, снижением нейротоксических проявлений, повышением двигательной активности. L-глутамин в дозах 14 г два раза в день в течение 8 нед увеличивает массу тела [50, 51]. L-глутамин в дозе 28 г в сутки улучшает иммунный статус ВИЧ-инфицированных, что проявляется увеличением количества CD3- и CD8-клеток и снижением вирусной нагрузки [48]. Глутамин и, особенно, дипептид аланин-глутамин в высоких дозах оказывают дозозависимое положительное действие в отношении диареи [8, 42]. Глутамин и дипептид аланин-глутамин усиливают абсорбцию веществ в кишечнике и стабилизируют интегративную функцию кишечника [8, 51]. Обе биологически активных формы глутамин останавливают и предупреждают потерю массы тела (синдром истощения — СИ) [42]. L-глутамин способствует восстановлению баланса между деградацией протеинов мышц и их синтезом [53].

В отношении действия АРВ-терапии: глутамин (в 64% случаев) и дипептид аланин-глутамин усиливают всасывание (абсорбцию) АРВ-препаратов (ритонавир, саквинавир и др.) [42]. Глутамин и дипептид аланин-глутамин дозозависимо увеличивают уровень АРВ-препаратов в организме больных, в том числе при комбинировании препаратов [42]. Особенно эффективно является применение высоких доз дипептида аланин-глутамин [42]. L-глутамин (30 г/день) уменьшает выраженность диареи, обусловленной проведением АРВТ, и улучшает качество жизни пациентов.

Последовательность (приоритетность) выбора форм L-глутамината: пероральные формы; энтеральные (зондовые); парентеральные (внутривенные). Следует отметить, что наличие в современной клинической практике РФ всех форм L-глутамината: L-аланил-L-глутамин (20% дипептивен) для внутривенного введения, L-глицил-L-глутамин для

зондового применения (интестамин), пероральная форма L-глутамината с антиоксидантами — обеспечивает возможность гибкого дозированного курсового их введения в зависимости от стадии и тяжести инфекционного процесса, индивидуальных особенностей пациента, схемы АРВТ и ее побочных эффектов.

Литература

1. Roth E. Immune and cell modulation by amino acids // Clin. Nutr.— 2007.— Vol. 26.— P. 535–544.
2. Roth E. Nonnutritive Effects of Glutamine // J. of Nutrition. 7th Amino Acid Assessment Workshop.— 2008.— Vol. 138.— P. 2025–2031.
3. Crothers K. Critical Care of Patients with HIV. Comprehensive, up-to-date information on HIV/AIDS treatment, prevention, and policy from the University of California San Francisco // HIV InSite. May.— 2006.
4. Беляков Н. А., Багненко С. Ф., Дубикайтис П. А., Алимона Р. Р., Виноградова Т. Н. Результаты десятилетнего выявления ВИЧ-инфекции в стационаре скорой медицинской помощи // Медицинский академический журнал.— 2014.— Т. 14, № 2.— С. 48–54.
5. Drain P. K., Kupka R., Mugusi F., Fawzi W. W. Micronutrients in HIV-positive persons receiving highly active antiretroviral therapy // Am. J. Clin. Nutr.— 2007.— Vol. 85.— P. 333–345.
6. Hsu J. W.-C., Pencharz P. B., Macallan D., Tomkins A. Macronutrients and HIV/AIDS: a review of current evidence // WHO. Department of Nutrition.— 2005.— 19 p.
7. Soares R. L. S., Coura L. C., Magalhães L. F. et al. Study of the correlation between nutritional status and histomorphometrical abnormalities in the jejunal mucosa in HIV infected patients // Gastroenterol. Endosc. Dig.— 1996.— Vol. 15.— P. 1–6.
8. Leite R. D., Lima N. L., Leite C. A. C. et al. Improvement of intestinal permeability with Alanine-Glutamine in HIV patients: a randomized, double blinded, placebo-controlled clinical trial // Arq. Gastroenterol.— 2013.— Vol. 50 (1), São Paulo Jan. / Mar.
9. Shabert J. K., Wilmore D. W. Glutamine deficiency as a cause of human immunodeficiency virus wasting // Med. Hypotheses.— 1996.— Vol. 46.— P. 252–256.
10. Macintosh H. D. The Importance of Glutamine and Antioxidant Vitamin Supplementation in HIV. Nemechek Health Renewal // Dedicated HIV Care.— 2007.
11. Вирус иммунодефицита человека — медицина. Руководство для врачей / под ред. Н. А. Белякова, А. Г. Рахмановой.— СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2010.— 752 с.
12. Беляков Н. А. Головной мозг как мишень для ВИЧ.— СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2011.— 48 с.
13. Трофимова Т. Н., Беляков Н. А. Многоликая нейрорадиология ВИЧ-инфекции // Лучевая диагностика и терапия.— 2010.— Т. 1, № 3.— С. 3–11.
14. Гайсина А. В., Рассохин В. В., Дементьева Н. Е., Беляков Н. А. Патопфизиология ВИЧ-ассоциированных нейрокогнитивных расстройств // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.— 2014.— Т. 6, № 2.— С. 25–40.
15. Ferrari S., Vento S., Monaco S., Cavallaro T., Cainelli F., Rizzuto N., Temesgen Z. Human immunodeficiency virus-associated peripheral neuropathies // Mayo Clin. Proc.— 2006.— Vol. 81 (2)— P. 213–219.
16. ВИЧ-инфекция и центральная нервная система / под ред. Н. А. Белякова, Т. Н. Трофимовой и В. В. Рассохина // Медицинский тематический архив.— 2013.— № 4.— 122 с.
17. Carvey L., Winston A., Walsh J., Post F., Porter K., Gazzard B., Fisher M., Leen C., Pillay D., Hill T., Johnson M., Gilson R., Anderson J., Easterbrook P., Bansi L., Orkin C., Ainsworth J., Phillips A. N., Sabin C. A. HIV-associated central nervous system diseases in the recent combination antiretroviral therapy era // Eur. J. Neurol.— 2011.— Vol. 18 (3)— P. 527–534.
18. Monsuez J. J., Goujon C., Wyplosz B. et al. Cerebrovascular diseases in HIV-infected patients // Curr. HIV Res.— 2009.— Vol. 7 (5)— P. 475–480.
19. Wright E. Neurocognitive impairment and neuroCART // Curr Opin HIV AIDS.— 2011.— Vol. 6 (4)— P. 303–308.
20. Daikhin Y., Yudkoff M. Compartmentation of Brain Glutamate Metabolism in Neurons and Glia // J. Nutr.— 2000.— Vol. 130.— P. 1026–1031.
21. Erecinska M., Zaleska M. M., Nelson D., Nissim I., Yudkoff M. Neuronal glutamine utilization: glutamine/glutamate homeostasis in synaptosomes // J. Neurochem.— 1990.— Vol. 54.— P. 2057–2069.
22. Hertz L. Functional interactions between neurons and astrocytes I. Turnover and metabolism of putative amino acid transmitters // Prog. Neurobiol.— 1979.— Vol. 13.— P. 277–323.
23. Shank R. P., Aprison M. H. Present status and significance of the glutamine cycle in neural tissues // Life Sci.— 1977.— Vol. 28.— P. 837–842.
24. Fillenz M. Physiological release of excitatory amino acids // Behav. Brain Res.— 1995.— Vol. 71.— P. 51–67.

25. *Danbolt N. C.* The high affinity uptake system for excitatory amino acids in the brain // *Prog. Neurobiol.*— 1994.— Vol. 44.— P. 377–396.
26. *Takahashi M., Billups B., Rossi D., Sarantis M., Hamann M., Attwell D.* The role of glutamate transporters in glutamate homeostasis in the brain // *J. Exp. Biol.*— 1977.— Vol. 200.— P. 401–409.
27. *Martinez-Hernandez A., Bell K. P., Norenberg M. D.* Glutamine synthetase: glial localization in brain. *Science (Washington, DC).*— 1977.— Vol. 195.— P. 1356–1358.
28. *Ramaharobandro N., Borg J., Mandel P., Mark J.* Glutamine and glutamate transport in cultured neuronal and glial cells // *Brain Res.*— 1982.— Vol. 244.— P. 113–121.
29. *Yudkoff M., Zaleska M. M., Nissim I., Nelson D., Erecińska M.* Neuronal glutamine utilization: pathways of nitrogen transfer studied with [¹⁵N] glutamine // *J. Neurochem.*— 1989.— Vol. 53.— P. 632–640.
30. *Gras G., Porcheray F., Samah B., Leone C.* The glutamate-glutamine cycle as an inducible, protective face of macrophage activation // *J. of Leukocyte Biology.*— 2006.— Vol. 80.— P. 1067–1075.
31. *Breitbart W.* A Clinical Guide to Supportive and Palliative Care for HIV/AIDS. Chapter 4: Pain', HIV/AIDS Bureau, Health Resources and Services Administration, U. S. Department of Health and Human Services.— 2003.
32. *Рассохин В. В., Беляков Н. А., Розенталь В. В., Леонова О. Н., Пантелеева О. В.* Вторичные и соматические заболевания при ВИЧ-инфекции // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.*— 2014.— Т. 6, № 1.— С. 7–18.
33. *Amara S.* Oral Glutamine for the prevention of chemotherapy-induced peripheral neuropathy // *Ann. Pharmacother.*— 2008.— Aug 12.
34. *Krashin D. L., Merrill J. O., Trescot A. M.* Opioids in the Management of HIV-Related Pain // *Pain Physician.*— 2012.— Vol. 15.— P. 157–168.
35. *Cavun S., Goktalay G., Millington W. R.* Glycyl-Glutamine, an Endogenous β -Endorphin-Derived Peptide, Inhibits Morphine-Induced Conditioned Place Preference, Tolerance, Dependence, and Withdrawal // *J. Pharmacol. Experim. Ther.*— 2005.— Vol. 315 (2).— P. 949–958.
36. *Zou S., Fitting S., Hahn Y-K., Welch S. P. et al.* Morphine potentiates neurodegenerative effects of HIV-1 Tat through actions at m-opioid receptor-expressing glia // *Brain. J. Neurol.*— 2011.— Vol. 134.— P. 3616–3631.
37. *Бобкова М. Р.* Лекарственная устойчивость ВИЧ.— М.: Человек, 2014.— 288 с.
38. *Cohen J., West A. B., Bini E. J.* Infectious diarrhea in HIV // *Gastroenterol Clin North Am.*— 2001.— Vol. 30.— P. 637–664.
39. *Fellay J., Boubaker K., Ledergerber B., Bernasconi E., Furrer H., Battegay M., Hirschel B., Vernazza P., Francioli P., Greub G., Flepp M., Telenti A.* Prevalence of adverse events associated with potent antiretroviral treatment: Swiss HIV Cohort Study // *Lancet.*— 2001.— Vol. 358.— P. 1322–1327.
40. *Heiser C. R., Ernst J. A., Barrett J. T., French N., Schutz M., Dube M. P.* Probiotics, soluble fiber, and L-Glutamine (GLN) reduce nelfinavir (NFV) — or lopinavir/ritonavir (LPV/r)-related diarrhea // *J. Int. Assoc Physicians AIDS Care (Chic).*— 2004.— Vol. 3 (4).— P. 121–129.
41. *Huffman F. G., Walgren M. E.* L-glutamine supplementation improves nelfinavir-associated diarrhea in HIV-infected individuals // *HIV Clin. Trials.*— 2003.— Vol. 4 (5).— P. 324–329.
42. *Bushen O. Y., Davenport J. A., Lima A. B., Piscitelli S. C., Uzgiris A. J., Silva T. M., Leite R., Kosek M., Dillingham R. A., Girao A., Lima A. A., Guerrant R. L.* Diarrhea and Reduced Levels of Antiretroviral Drugs: Improvement with Glutamine or Alanyl-Glutamine in a Randomized Controlled Trial in Northeast Brazil // *Clin. Infect Dis.*— 2004.— Vol. 38 (12).— P. 1764–1770.
43. *Shabert J. K., Winslow C., Lacey J. M., Wilmore D. W.* Glutamine-antioxidant supplementation increases body cell mass in AIDS patients with weight loss: a randomized, double-blind controlled trial // *Nutrition.*— 1999.— Vol. 5.— P. 860–864.
44. *Li C. H. et al.* β -Endorphin: Replacement of glutamic acid in position 8 by glutamine increases analgesic potency and opiate receptor-binding activity // *Biochemical and Biophysical Research Communications.*— 1981.— Vol. 101(1).— P. 118–123.
45. *Parish D. C., Smyth D. G., Normanton J. R., Wolstencroft J. H.* Glycyl glutamine, an inhibitory neuropeptide derived from β -endorphin // *Nature (Lond).*— 1983.— Vol. 306.— P. 267–270.
46. *Smith A. I., Funder J. W.* Proopiomelanocortin processing in the pituitary, central nervous system and peripheral tissues // *Endocr. Rev.*— 1988.— Vol. 9.— P. 159–179.
47. *Owen M. D., Unal C. B., Callahan M. F., Trivedi K., York C., Millington W. R.* Glycyl-glutamine inhibits the respiratory depression, but not the antinociception, produced by morphine // *Am. J. Physiol.*— 2000.— Vol. 279.— P. 1944–1948.
48. *Clark R. H. et al.* Nutritional treatment for acquired immunodeficiency virus-associated wasting using beta-hydroxy beta-methylbutyrate, glutamine, and arginine: a randomized, double-blind, placebo-controlled study // *J. Parent. Enteral Nutr.*— 2000.— Vol. 24.— P. 133–139.
49. *Serrano-Villar S. et al.* Targeting Gut Mucosa in HIV+ Subjects With Prebiotics and Glutamine: A Pilot Clinical Trial. Workshop: Inflammation and chronic hepatitis/HIV infections: who is the driver? Milan. Italy.— 2014.
50. *Patrick L.* Nutrients and HIV: Part Three — N-Acetylcysteine, Alpha-Lipoic Acid, L-Glutamine, and L-Carnitine // *Alternative Medicine Review.*— 2000.— Vol. 5 (4).— P. 290–305.
51. *Noyer C. M., Simon D., Borczuk A.* A double-blind placebo-controlled pilot study of glutamine therapy for abnormal intestinal permeability in patients with AIDS // *Am. J. Gastroenterol.*— 1998.— Vol. 93.— P. 972–975.
52. *Dudgeon W. D., Phillips K. D., Carson J. A.* Counteracting muscle wasting in HIV-infected individuals. British HIV Association // *HIV Medicine.*— 2006.— Vol. 7.— P. 299–310.

53. *Gras G., Porcheray F., Samah B., Leone C.* The glutamate-glutamine cycle as an inducible, protective face of macrophage activation // *J. Leukoc. Biol.*— 2006.— Vol. 80.— P. 1067–1075.
54. *Jain P., Khanna N. K.* Evaluation of anti-inflammatory and analgesic properties of L-Glutamine // *Agents and Actions.*— 1981.— Vol. 11 (3).— P. 243–249.
55. *Nageli M. et al.* Prolonged continuous intravenous infusion of the dipeptide L-alanine-L-glutamine significantly increases plasma glutamine and alanine without elevating brain glutamate in patients with severe traumatic brain injury // *Critical Care.*— 2014.— Vol. 18.— P. 139–150.
56. *Newsholme Ph., Procopio J., Ramos Lima M. M. et al.* Glutamine and glutamate — their central role in cell metabolism and function // *Cell Biochem Funct.*— 2003.— Vol. 21.— P. 1–9.
57. *Ockenga J., Grimble R., Jonkers-Schuitema C.* ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Wasting in HIV and other chronic infectious diseases // *Clinical Nutrition.*— 2006.— Vol. 25.— P. 319–329.
58. *Pires V. L., Souza J. R., Guimarães S. B. et al.* Preconditioning with L-alanyl-L-glutamine in a Mongolian gerbil model of acute cerebral ischemia/reperfusion injury // *Acta Cir. Bras.*— 2011.— Vol. 26(1).— P. 14–20.
59. *Хоффман К., Рокитро Ю.* Лечение ВИЧ-инфекции. — М.: Валент, 2012.— 736 с.

Поступила в редакцию: 19.04.2015 г.

Контакт: *Луфт Валерий Матвеевич, lvm_asper@mail.ru*

Сведения об авторах:

Луфт Валерий Матвеевич — д-р мед. наук, профессор, руководитель лаборатории клинического питания Санкт-Петербургского НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, ведущий научный сотрудник Санкт-Петербургского НИИ скорой помощи им.

И. И. Джанелидзе. 192242, Санкт-Петербург, ул. Будапештская, д. 3. e-mail: lvm_asper@mail.ru;

Дмитриев Александр Владимирович — д-р мед. наук, профессор, эксперт Региональной Северо-Западной Ассоциации парентерального и энтерального питания, 194017 Санкт-Петербург, пр. Мориса Тереза, д. 72, Клиническая больница РАН для «РСЗ АСПЭП»;

Сизова Наталья Владимировна — д-р мед. наук, доцент кафедры социально-значимых инфекций Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И. П. Павлова, зав. отделением Санкт-Петербургского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 179, (812) 251-08-53;

Беляков Николай Алексеевич — академик РАН, заведующий кафедрой социально-значимых инфекций Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И. П. Павлова, главный научный сотрудник Института экспериментальной медицины, руководитель Санкт-Петербургского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 179, (812) 251-08-53.

Наши подписные индексы:

Агентство «Роспечать» — **57999**

Объединенный каталог «Пресса России» — **42190**

ЛЕКЦИИ

УДК 616-005-009.17

ТЕЛЬЦА МАРИНЕСКО – ВНУТРИЯДЕРНЫЕ ВКЛЮЧЕНИЯ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ

И. П. Григорьев, Д. Э. Коржевский
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

MARINESCO BODIES: INTRANUCLEAR INCLUSION-BODIES OF DOPAMINERGIC NEURONS

I. P. Grigorev, D. E. Korzhevskii
Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

© И. П. Григорьев, Д. Э. Коржевский, 2015 г.

Обзор посвящен рассмотрению имеющихся данных о внутриядерных включениях нервных клеток, так называемых тельцах Маринеско. Эти структуры были описаны впервые в 1902 году в пигментированных областях мозга человека — черной субстанции и голубом пятне, преимущественно в меланинсодержащих нейронах. Размеры их примерно соответствуют размеру ядрышка, причем в одном ядре может быть несколько телец Маринеско. С помощью иммуногистохимии в тельцах Маринеско обнаружены убиквитин и некоторые другие белки убиквитин-протеасомной системы, а также оптиневрин и валозин-содержащий белок, однако не удалось выявить белки, связанные с развитием нейродегенеративных заболеваний, такие как β -амилоид, α -синуклеин, тау-белок, прионный белок PrP. Отмечена тенденция увеличения содержания телец Маринеско с возрастом, однако корреляции их количества с какой-либо патологией головного мозга не выявлено.

Ключевые слова: тельца Маринеско, черное вещество, головной мозг, человек.

Available data are reviewed on the intranuclear inclusions known as Marinesco bodies in nerve cells. These structures were described for the first time in 1902 in the pigmented areas of human brain (substantia nigra and locus coeruleus), mainly in the melanin-containing neurons. Their sizes correspond roughly to those of nucleoli. One nucleus may contain several Marinesco bodies. Immunohistochemistry showed that Marinesco bodies comprise ubiquitin and some other proteins of the ubiquitin-proteasome system as well as optineurin and valosin-containing protein, but not proteins associated with the development of certain neurodegenerative diseases, such as β -amyloid, α -synuclein, tau-protein, and the prion protein PrP. A tendency to an increase in the number of Marinesco bodies with increasing age was found, but no correlation with any brain pathology was revealed.

Key world: Marinesco bodies, substantia nigra, brain, human.

Введение. Тельца Маринеско — внутриядерные включения, регулярно обнаруживаемые в центральных дофаминергических нейронах, подавляющее большинство которых у человека сосредоточено в особой анатомической зоне среднего мозга, называемой черным веществом (substantia nigra) [1]. Черное вещество характеризуется наличием пигментированных нейронов, которые содержат нейромеланин, и определенными особенностями глииархитектоники [2]. Хотя черное вещество активно исследуется в связи с одним из наиболее известных нейродегенеративных заболеваний — болезнью Паркинсона [3], причины появления в нейронах данной области мозга необычных внутриядерных телец до сих пор неясны.

Цель настоящей работы состояла в критическом обзоре данных многообразных исследований, касающихся структуры и состава телец Маринеско, а также поиска связи между появлением этих внутриядерных структур и различными заболеваниями нервной системы.

История изучения телец Маринеско. Тельца Маринеско были описаны впервые в 1902 году румынским невропатологом Джордже Маринеско, который работал тогда в Париже [4]. В краткой статье без иллюстраций он дал описание эозинофильных включений в ядре нейронов черной субстанции («locus niger») и голубого пятна («locus caeruleus») у человека. Они представляли собой сферические парануклеолярные тельца, число которых могло варь-

ировать от 1 до 6, но чаще было 1–3. Размером они редко превышали ядрышко, достигая 7 мкм в диаметре, иногда были одинаковой с ним величины, но, как правило, были меньше ядрышка, особенно когда их содержалось много в одном ядре. Располагались они в ядре относительно ядрышка случайным образом. «Размер этих телец, по-видимому, не зависел от возраста, поскольку наибольший диаметр был обнаружен у 30-летнего мужчины. В целом, они более многочисленны у взрослых и старых людей, чем у молодых. У последних они, на самом деле, редко встречаются и отсутствуют у детей» [4].

Со времени открытия этих необычных внутриядерных включений и вплоть до начала использования метода иммуногистохимии им уделялось мало внимания и было опубликовано считанное число работ, касающихся их исследования в норме и при патологии. Из наиболее значительных исследований, проведенных в «доиммуногистохимическую эру», следует указать на работу Вольфа и Ортона (1932) [5], которые описали такие же внутриядерные включения в пигментированных клетках ЦНС при различных патологиях, а также фундаментальное исследование Юна и Бакстера, проведенное в Канаде в 1963 году [6]. Они изучали черную субстанцию в аутопсийном материале (160 наблюдений) на фронтальных парафиновых срезах головного мозга. Тельца Маринеско были обнаружены в большинстве случаев (в 125 случаях, у лиц старше 21 года из общего числа 160 наблюдений). Не было обнаружено зависимости присутствия телец Маринеско в нейронах от характера терминального заболевания (неврологических случаев почти не было).

В ходе исследования частоты встречаемости телец Маринеско в зависимости от возраста (начиная от младенчества и заканчивая старческим возрастом) было обнаружено, что они отсутствовали в младшей возрастной группе (0–20 лет), 1–5 телец было найдено у лиц 21–25 лет, 6–10 телец Маринеско наблюдались начиная с возраста 31–50 лет, свыше 10 — начиная с возраста 56–60 лет, т. е. продемонстрирована явная тенденция увеличения с возрастом числа людей с тельцами Маринеско в черной субстанции и увеличения количества телец Маринеско в ядрах нейронов. Тельца Маринеско были отмечены в отдельных не содержащих меланин нейронах черной субстанции. В цитоплазме или вне клеток они не выявлялись [6].

Кроме того, были исследованы срезы мозга всем доступным тогда набором гистологических и гистохимических методов окрашивания. Обнаружено, что разные красители по-разному окрашивают тельца Маринеско и ядрышко (например, гематоксилин-эозин — ярко-фиолетовое ядрышко и розовые тель-

ца Маринеско, толуидиновый синий — синее ядрышко и бледно-зеленые тельца Маринеско, трехцветная окраска по Массону — темно-синее ядрышко и бледно-розовые тельца Маринеско и т. д.). Интересно, что крезоловый фиолетовый, окрашивая ядрышко фиолетовым цветом, совсем не окрашивал тельца Маринеско. Окраска на аминокислоты по Даниелли была одинаково положительной как для ядрышка, так и для телец Маринеско, а серебрение по Фонтана одинаково чернило обе структуры. Как ядрышко, так и тельца Маринеско не окрашивались при следующих методах окраски: ШИК-реакция, реакция Фельгена, судановыми красителями на липиды, прочным зеленым на гистоны, по Косса на кальций, и по Гомори на железо [6].

В одном из последующих исследований отмечено, что количество меланина в нигральных нейронах, содержащих тельца Маринеско, меньше, чем в тех нигральных нейронах, в которых телец Маринеско нет [7]. В этот же период появилось первое электронномикроскопическое исследование телец Маринеско [8]. Показано, что на ультраструктурном уровне они представляют собой овальные агрегаты зернистого осмиофильного материала диаметром 20 нм, не ограниченного мембраной. Некоторые из них были соединены с решеткой, состоящей из множества тонких нитей по 10–12 нм в диаметре. Более поздние электронномикроскопические исследования подтвердили эти наблюдения [9, 10].

Обзор «гистологического этапа» изучения телец Маринеско следует дополнить более современными данными [11], согласно которым лишь в 2% пигментированных клеток *substantia nigra pars compacta* у человека выявляются тельца Маринеско; это число варьирует от 0 до 4,6%. Интересно, что в этой работе не были выявлены тельца Маринеско у трех лиц из 24 обследованных, причем одному из них было 95 лет [11].

Иммуноцитохимические исследования телец Маринеско. Начиная с 1990-х годов стали появляться исследования телец Маринеско, выполненные с использованием методов иммуногистохимии. В большинстве работ такого рода исследовался мозг при различных патологиях, но всегда изучали и данные контрольной группы. Важнейшими сведениями, полученными с помощью данного подхода, следует считать данные о наличии в этих структурах убиквитина.

К настоящему времени доказано существование в клетках двух систем деградации ненужных и поврежденных белков: медленной лизосомной и более быстрой убиквитин-протеасомной. Убиквитин в последней системе — это маленький белок, поме-

чающий потенциальную мишень среди измененных белков для осуществления последующего протеолиза. Важно подчеркнуть, что мечение белков убиквитином и другими белками из семейства убиквитина (убиквитин-подобными молекулами) не только регулирует процесс распада белков, но и участвует в регуляции многих других процессов в клетке, включая синтез и репарацию ДНК, деление клеток, транскрипцию, трансляцию, биогенез органелл, эндоцитоз и аутофагию [12].

Первоначально убиквитин был обнаружен в тельцах Маринеско в 1989 г. [13] с помощью антител на парные спиральные филаменты (paired helical filaments), которые, как показано ранее, маркируют и убиквитин. Позднее наличие убиквитина в тельцах Маринеско в мозге человека было продемонстрировано с помощью антител непосредственно к данному белку [14–19], причем показано, что от 4 до 16% нигральных нейронов в контрольном мозге человека имеют убиквитин-иммунореактивные тельца Маринеско [10, 20]. Также убиквитин был продемонстрирован в тельцах Маринеско черной субстанции у обезьян [21].

Наличие убиквитина в тельцах Маринеско стало настолько признанным, что в более поздних исследованиях убиквитин стали использовать как их маркер, и о наличии либо числе телец Маринеско стали судить просто по наличию и количеству убиквитин-иммунореактивной метки [22, 23]. Интересно, что недавно внутриядерные включения обнаружили в меланоцитах дермального невуса. Это были эозинофильные и убиквитин-иммунопозитивные, а на ультраструктурном уровне — мелкогранулярные, электронноплотные структуры, не окруженные мембраной, что позволило предположить возможное их родство с тельцами Маринеско нейронов черного вещества [24].

Один из убиквитин-подобных белков убикилин-2 также был обнаружен в черном веществе пожилых людей (контрольные случаи), причем убикилин-2-иммунопозитивная реакция была выявлена и в тельцах Маринеско [25].

С помощью методов иммуногистохимии в тельцах Маринеско черной субстанции человека были обнаружены, помимо убиквитина, следующие белки:

1) белки убиквитин-протеасомной системы: p62, EDD1, NEDD8, NUB1, SUMO-1, SUMO-2 [17];

2) белки, связанные с процессом аутофагии: LC3, GABARAP, GATE-16 [17];

3) атаксин-3 — полиглутаминный белок, который участвует в патогенезе спиноцеребеллярной атаксии третьего типа, или болезни Мачадо–Джозефа [15, 26]. Помимо человека, атаксин-3 в тельцах

Маринеско был обнаружен и в черной субстанции у обезьян [21]. Однако в одной из последующих работ атаксин-3 в тельцах Маринеско у человека не был выявлен [27];

4) оптиневрин — белок, принимающий участие в патогенезе глаукомы, развитии апоптоза, воспаления [18, 28];

5) белок FIG4 (Factor-Induced-Gene 4). Это белок, который кодируется геном FIG4, известным также как SAC3, и который является фосфатазой, регулирующей расщепление фосфатидилинозитол-3,5-бифосфата, ключевой молекулы, необходимой для обеспечения транспорта внутриклеточных пузырьков по эндосомально-лизосомальному пути. Нарушение функционирования данной системы связано с развитием бокового амиотрофического склероза [29];

6) валозин-содержащий белок (Valosin-containing protein) — широко распространенный многофункциональный белок из семейства белков AAA+ (АТФаза, связанная с различными функциями). Тельца Маринеско 85% нигральных нейронов были иммунореактивными на этот белок [30].

Среди белков, которые пытались обнаружить в тельцах Маринеско и которые выявить в них не удалось, следует отметить β-амилоид [27, 31], α-синуклеин [11, 27, 31], синфилин-1 — связанный с α-синуклеином белок [32], tau-белок — белок, стабилизирующий микротрубочки, преимущественно в нервных клетках, который накапливается в поврежденных нейронах и их отростках при нейродегенеративных заболеваниях [27, 33], казеинкиназа-1δ — белок, накапливающийся при некоторых нейродегенеративных заболеваниях [33], прионный белок PrP [31], атаксин-2 и TATA-binding protein (TBP) — фактор транскрипции, присоединяющийся специфически к соответствующей последовательности ДНК [15], белок MAP5 (microtubule-associated protein 5) — один из дифференцировочных маркеров и компонент телец Леви [34].

Полученные с помощью иммуногистохимии данные позволяют предположить, что белки, связанные с убиквитинированием, протеасомной деградацией и аутофагией, связаны с образованием или распадом телец Маринеско, однако, по-видимому, не связаны с образованием амилоидных бляшек, телец Леви и подобных аномальных структур, наблюдаемых при классических нейродегенеративных заболеваниях (болезнях Паркинсона и Альцгеймера).

Тельца Маринеско при старении и при патологии. Как отмечалось выше, еще в работе G. Marinesco было замечено, что с возрастом количество парануклеолярных телец увеличивается.

Позднее этот факт был отмечен во многих публикациях применительно к нейронам черной субстанции людей, умерших от разных заболеваний — как неврологических, так и не связанных с поражением органов нервной системы [6, 11, 14, 35–37]. Четкая тенденция к увеличению количества телец Маринеско с возрастом была неоднократно проиллюстрирована с использованием адекватных методов статистики. Таким образом, можно твердо говорить о статистически достоверной тенденции к увеличению встречаемости телец Маринеско в пигментированных нигральных нейронах с возрастом. Однако эта общая тенденция выявляется в больших выборках на фоне значительного разнообразия фактических данных. Достаточно напомнить о приводившемся выше факте отсутствия телец Маринеско в черном веществе 95-летнего мужчины [11]. В другом исследовании черного вещества мозга людей, погибших при пожаре, не было обнаружено никакой зависимости встречаемости телец Маринеско от возраста [38]. Возможно, это противоречие обусловлено особенностью использованной выборки.

Тенденция к увеличению количества телец Маринеско с возрастом была продемонстрирована не только для человека, но и для других приматов. Тельца Маринеско были выявлены в катехоламинергических нейронах вентральной полоски черного вещества обезьян. При этом установлено, что с возрастом число катехоламинергических клеток уменьшается, но число телец Маринеско в оставшихся клетках увеличивается (о количестве телец Маринеско судили по убиквитиновой иммунореактивности, без гистологического изучения структур) [22, 39].

Что касается взаимосвязи телец Маринеско с какими-либо патологическими процессами, то определенных данных о возможной причастности телец Маринеско к каким-то конкретным заболеваниям или группе заболеваний нет. На «гистологическом этапе» исследования телец Маринеско они признавались нормальными, физиологическими внутриядерными компонентами, никак не связанными с патогенезом неврологических заболеваний. Позднее, когда появились иммуногистохимические данные о присутствии в данных структурах различных белков, связанных с убиквитин-протеасомной системой и, в первую очередь, самого убиквитина, стали появляться предположения о возможном их участии в патогенезе нейродегенеративных заболеваний. Убиквитин участвует в уничтожении дефектных белков в клетке, и именно он регулярно обнаруживается в тельцах Маринеско. И поэтому вполне естественно предполагать, что нарушение функционирования внутриклеточных систем, в которых уча-

ствует убиквитин, может лежать в основе механизмов нейродегенерации [12], а тельца Маринеско могут играть в этом процессе значимую роль. Однако необходимо обратить внимание на то, что мечение белков убиквитином и другими белками из семейства убиквитина (убиквитин-подобными молекулами) не только регулирует в клетке процесс распада белков, но также способствует настройке многих других клеточных процессов, включая синтез и репарацию ДНК, биогенез органелл, эндоцитоз и многие другие.

Одна из работ, указывающих на вероятную причастность телец Маринеско к патогенезу нейродегенеративных заболеваний, — это исследование Капаан и соавт. (2007) [22]. В другом исследовании прямо утверждается, что частота появления телец Маринеско связана с патологическими состояниями [35]. Было изучено появление телец Маринеско в черном веществе людей в следующих группах: молодые нормальные — контроль, пожилые — контроль, деменция с тельцами Леви, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона. Обнаружено значительное повышение частоты встречаемости телец Маринеско в группах пожилых — контроль, болезнь Альцгеймера и деменция с тельцами Леви — по сравнению с молодыми (контроль). В то же время случаи болезни Паркинсона не отличались от контроля. Среди случаев с высокой частотой появления телец Маринеско, в группе деменции с тельцами Леви, их количество было значительно выше, чем в группе пожилые-контроль, а при болезни Альцгеймера — не отличались от группы пожилые-контроль. В нейронах, содержащих тельца Леви, частота встречаемости телец Маринеско была значительно выше, чем в не содержащих тельца Леви. Частота обнаружения телец Маринеско в черном веществе в группе пожилые-контроль была достоверно обратно пропорциональна концентрации в полосатом теле переносчика дофамина и тирозингидроксилазы — маркеров дофаминергических нейронов. Полученные данные однозначно указывают на увеличение числа телец Маринеско с возрастом и позволяют предположить, что существенное повышение содержания телец Маринеско, не соответствующее возрастной группе, может быть признаком патологического процесса, указывающего на заболевания, связанные с образованием телец Леви. Однако полученные данные не раскрывают патогенетическую роль телец Маринеско при нейродегенерации и скорее указывают на появление признаков ускоренного старения у нейронов черного вещества, что может сопровождать патологический процесс.

Интересно, что отдельными последователями мнения о причастности телец Маринеско к патогенезу нейродегенеративных заболеваний [29] для его обоснования особо подчеркивается тот факт, что у пациентов с болезнью Паркинсона и деменцией с тельцами Леви частота появления телец Маринеско значительно выше в тех нигральных нейронах, которые также содержат и тельца Леви, чем в тех, где телец Леви нет [35]. Однако подобный аргумент без объяснения механизма данного явления не может служить бесспорным доказательством связи телец Маринеско с нейродегенерацией.

Разновидность убиквитина — Lys63-связанный полиубиквитин (Lys63-linked polyubiquitin), как было недавно установлено, накапливается при болезни Гентингтона. Иммуногистохимическое изучение этого белка в мозге пациентов с болезнью Паркинсона выявило его в различных структурах мозга, включая черное вещество, где полиубиквитин присутствовал в тельцах Маринеско [40]. При миотонической дистрофии, которая сопровождается расстройством функционирования ЦНС и развитием деменции, в черном веществе наблюдали достоверное увеличение количества клеток, содержащих тельца Маринеско (в 37,4% клеток против 4,1% в контроле) [10]. В других работах также отмечалось «повышенное количество» телец Маринеско в черном веществе, причем они были подробно описаны гистологически и электронномикроскопически, были убиквитин-иммунопозитивными, однако из текста работ остается неясным, какой контрольный материал был использован для сравнения [9, 41].

В то же время при болезни Паркинсона в нигральных нейронах телец Маринеско было обнаружено достоверно меньше, чем при отсутствии неврологических заболеваний или при болезни Альцгеймера [11, 31]. Фактически эта работа противоречит выводам, сделанным ранее Beach (2004) [35].

В отдельных исследованиях изучалось распределение разряда белковых веществ в тельцах Маринеско при различных нейродегенеративных заболеваниях и других патологических процессах. Единственный

белок, который был обнаружен в тельцах Маринеско при заболевании, но не выявлен в контроле, — глутаральдегид-3-фосфатдегидрогеназа. Этот фермент давно известен как классический гликолитический белок, однако не так давно показано, что он является также фактором, инициирующим апоптоз. Иммуногистохимически было показано, что глутаральдегид-3-фосфатдегидрогеназа имеется в тельцах Маринеско (а также тельцах Леви) при болезни Паркинсона, но отсутствует в контроле [42]. Тем не менее, этот факт скорее указывает на вовлеченность телец Маринеско в развитие патологического процесса при его наличии, чем на то, что сами по себе тельца Маринеско служат индикаторами какого-либо патологического процесса.

Резюмируя приведенные данные литературы, следует отметить, что за прошедший век после открытия телец Маринеско мы удовлетворительно представляем строение этих микроструктур, имеем отдельные знания об их химической природе, но совершенно не знаем об их физиологическом значении. Вопрос о возможном участии телец Маринеско в патогенезе хронических заболеваний нервной системы не снят с повестки дня. Имеющиеся на сегодня сведения об участии телец Маринеско в развитии нейродегенеративных процессов противоречивы и не вполне убедительны. Тем не менее, накопление в этих тельцах факторов, которые могут способствовать аутофагии и апоптозу (двум вариантам запрограммированной клеточной гибели), а также общепризнанная связь увеличения числа телец Маринеско со старением указывают на перспективность их дальнейшего изучения. Особо следует отметить необходимость анализа их протеома и поиска новых химических компонентов данных структур, что позволило бы прояснить как вопрос о связи телец Маринеско с запуском программы клеточной гибели, так и вопрос о причинах их появления в популяции нейронов определенной медиаторики.

* * *

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект №14-15-00014).

Литература

1. Сухорукова Е. Г., Алексеева О. С., Коржевский Д. Э. Катехоламинергические нейроны головного мозга млекопитающих и нейромеланин // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. — 2014. — Т. 50, № 5. — С. 336–342.
2. Коржевский Д. Э., Кирик О. В., Сухорукова Е. Г., Сырцова М. А. Микроглия черного вещества головного мозга человека // Мед. акад. журн. — 2014. — Т. 14, № 4. — С. 68–72.
3. Parent M., Parent A. Substantia nigra and Parkinson's disease: a brief history of their long and intimate relationship // Can J. Neurol. Sci. — 2010. — Vol. 37, № 3. — P. 313–319.
4. Marinesco G. Sur la presence des corpuscles acidophiles paranucleolaires dans les cellules du locus niger et du locus ceruleus // C. R. Acad. Sci. — 1902. — Vol. 135. — P. 1000–1002.

5. Wolf A., Orton S. T. The occurrence of intranuclear inclusions in human nerve cells in a variety of diseases // *Bull. Neurol. Inst. New York.*— 1932.— Vol. 2.— P. 194–209.
6. Yuen P., Baxter D. W. The morphology of Marinesco bodies (paranucleolar corpuscles) in the melanin-pigmented nuclei of the brain-stem // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.*— 1963.— Vol. 26.— P. 178–183.
7. Ikeda K. A study of the Marinesco body in monkey (*Macaca fuscata*). A comparative study to the Marinesco body in man // *Seishin Shinkeigaku Zasshi.*— 1974.— Vol. 76.— P. 778–792.
8. Leestma J. E., Andrews J. M. The fine structure of the Marinesco body // *Arch Pathol.*— 1969 — Vol. 88, № 4.— P. 431–436.
9. Ono S., Inoue K., Mannen T., Kanda F., Jinnai K., Takahashi K. Neuropathological changes of the brain in myotonic dystrophy — some new observations // *J. Neurol. Sci.*— 1987.— Vol. 81.— P. 301–320.
10. Ono S., Inoue K., Mannen T., Mitake S., Shirai T., Kanda F., Jinnai K., Takahashi K. Intracytoplasmic inclusion bodies of the thalamus and the substantia nigra, and Marinesco bodies in myotonic dystrophy: a quantitative morphological study // *Acta Neuropathol.*— 1989.— Vol. 77, № 4.— P. 350–356.
11. Krygowska-Wajs A., Lenda T., Adamek D., Moskała M., Kuter K., Kunz J., Smiałowska M., Ossowska K. Increased synphilin-1 expression in human elderly brains with substantia nigra Marinesco bodies // *Pharmacol. Rep.*— 2008.— Vol. 60, № 6.— P. 914–924.
12. Arnold J., Dawson S., Fergusson J., Lowe J., Landon M., Mayer R. J. Ubiquitin and its role in neurodegeneration // F. W. Van Leeuwen, A. Salehi, R. J. Giger, A. J. G. D. Holtmaat, and J. Verhaagen (eds.) / *Progress in Brain Research.*— 1998.— Vol. 117.— P. 23–34.
13. Bancher C., Lassmann H., Budka H., Jellinger K., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Wiche G., Seitelberger F., Wisniewski H. M. An antigenic profile of Lewy bodies: immunocytochemical indication for protein phosphorylation and ubiquitination // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*— 1989.— Vol. 48, № 1.— P. 81–93.
14. Dickson D. W., Wertkin A., Kress Y., Ksiezak-Reding H., Yen S. H. Ubiquitin immunoreactive structures in normal human brains. Distribution and developmental aspects // *Lab. Invest.*— 1990.— Vol. 63.— P. 87–99.
15. Fujigasaki H., Uchihara T., Takahashi J., Matsushita H., Nakamura A., Koyano S., Iwabuchi K., Hirai S., Mizusawa H. Preferential recruitment of ataxin-3 independent of expanded polyglutamine: an immunohistochemical study on Marinesco bodies // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.*— 2001.— Vol. 71.— P. 518–520.
16. Hayashi Y., Kakita A., Yamada M., Koide R., Igarashi S., Takano H., Ikeuchi T., Wakabayashi K., Egawa S., Tsuji S., Takahashi H. Hereditary dentatorubral-pallidolulysian atrophy: detection of widespread ubiquitinated neuronal and glial intranuclear inclusions in the brain // *Acta Neuropathol.*— 1998.— Vol. 96, № 6.— P. 547–552.
17. Odagiri S., Tanji K., Mori F., Kakita A., Takahashi H., Kamitani T., Wakabayashi K. Immunohistochemical analysis of Marinesco bodies, using antibodies against proteins implicated in the ubiquitin-proteasome system, autophagy and aggresome formation // *Neuropathology.*— 2012.— Vol. 32.— P. 261–266.
18. Schwab C., Yu S., McGeer P. L. Optineurin is colocalized with ubiquitin in Marinesco bodies // *Acta Neuropathol.*— 2012.— Vol. 123, № 2.— P. 289–292.
19. Woulfe J., Gray D., Pritchett-Pejic W., Munoz D. G., Chretien M. Intranuclear rodlets in the substantia nigra: interactions with Marinesco bodies, ubiquitin and promyelocytic leukemia protein // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*— 2004.— Vol. 63.— P. 1200–1207.
20. Prudente C. N., Pardo C. A., Xiao J., Hanfelt J., Hess E. J., Ledoux M. S., Jinnah H. A. Neuropathology of cervical dystonia // *Exp. Neurol.*— 2013.— Vol. 241.— P. 95–104.
21. Kettner M., Willwohl D., Hubbard G. B., Rüb U., Dick E. J. Jr., Cox A.B., Trottier Y., Auburger G., Braak H., Schultz C. Intranuclear aggregation of nonexpanded ataxin-3 in Marinesco bodies of the nonhuman primate substantia nigra // *Exp. Neurol.*— 2002.— Vol. 176.— P. 117–121.
22. Kanaan N. M., Kordower J. H., Collier T. J. Age-related accumulation of Marinesco bodies and lipofuscin in rhesus monkey midbrain dopamine neurons: relevance to selective neuronal vulnerability // *J. Comp. Neurol.*— 2007.— Vol. 502, № 5.— P. 683–700.
23. Alladi P. A., Mahadevan A., Vijayalakshmi K. Ageing enhances alpha-synuclein, ubiquitin and endoplasmic reticular stress protein expression in the nigral neurons of Asian Indians // *Neurochem. Int.*— 2010.— Vol. 57, № 5.— P. 530–539.
24. Schaefer J. T., Nuovo G. J., Yen T. S., Werner B. Prominent eosinophilic intranuclear inclusions in melanocytes of a melanocytic nevus: the aftermath of an infection with molluscum contagiosum? A case report // *J. Cutan. Pathol.*— 2008.— Vol. 35, № 8.— P. 782–788.
25. Mori F., Tanji K., Odagiri S., Toyoshima Y., Yoshida M., Ikeda T., Sasaki H., Kakita A., Takahashi H., Wakabayashi K. Ubiquitin immunoreactivity in cytoplasmic and nuclear inclusions in synucleinopathies, polyglutamine diseases and intranuclear inclusion body disease // *Acta Neuropathol.*— 2012.— Vol. 124, № 1.— P. 149–151.
26. Kumada S., Uchihara T., Hayashi M., Nakamura A., Kikuchi E., Mizutani T., Oda M. Promyelocytic leukemia protein is redistributed during the formation of intranuclear inclusions independent of polyglutamine expansion: an immunohistochemical study on Marinesco bodies // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*— 2002.— Vol. 61.— P. 984–991.
27. Verbeek D. S., Van de Warrenburg B. P. C., Wesseling P., Pearson P. L., Kremer H. P., Sinke R. J. Mapping of the SCA23 locus involved in autosomal dominant cerebellar ataxia to chromosome region 20p13–12.3 // *Brain.*— 2004.— Vol. 127.— P. 2551–2557.

28. Mori F., Tanji K., Toyoshima Y., Yoshida M., Kakita A., Takahashi H., Wakabayashi K. Optineurin immunoreactivity in neuronal nuclear inclusions of polyglutamine diseases (Huntington's, DRPLA, SCA2, SCA3) and intranuclear inclusion body disease // *Acta Neuropathol.*— 2012.— Vol. 123, № 5.— P. 747–749.
29. Kon T., Mori F., Tanji K., Miki Y., Toyoshima Y., Yoshida M., Sasaki H., Kakita A., Takahashi H., Wakabayashi K. ALS-associated protein FIG4 is localized in Pick and Lewy bodies, and also neuronal nuclear inclusions, in polyglutamine and intranuclear inclusion body diseases // *Neuropathology.*— 2014.— Vol. 34, № 1.— P. 19–26.
30. Mori F., Tanji K., Toyoshima Y., Sasaki H., Yoshida M., Kakita A., Takahashi H., Wakabayashi K. Valosin-containing protein immunoreactivity in tauopathies, synucleinopathies, polyglutamine diseases and intranuclear inclusion body disease // *Neuropathology.*— 2013.— Vol. 33, № 6.— P. 637–644.
31. Vollans A. K., Shukla C., Bridges L. R. Immunohistochemical characterization and quantification of Marinesco bodies in Alzheimer's and Parkinson's diseases // *Neuropathology and Applied Neurobiology.*— 2002.— Vol. 28, № 2.— P. 166.
32. Wakabayashi K., Engelender S., Tanaka Y., Yoshimoto M., Mori F., Tsuji S., Ross C.A., Takahashi H. Immunocytochemical localization of synphilin-1, an alpha-synuclein-associated protein, in neurodegenerative disorders // *Acta Neuropathol.*— 2002.— Vol. 103, № 3.— P. 209–214.
33. Schwab C., DeMaggio A. J., Ghoshal N., Binder L. I., Kuret J., McGeer P. L. Casein kinase 1 delta is associated with pathological accumulation of tau in several neurodegenerative diseases // *Neurobiol Aging.*— 2000.— Vol. 21, № 4.— P. 503–510.
34. Gai W. P., Blumberg P. C., Blessing W. W. Microtubule-associated protein 5 is a component of Lewy bodies and Lewy neurites in the brainstem and forebrain regions affected in Parkinson's disease // *Acta Neuropathol.*— 1996.— Vol. 91, № 1.— P. 78–81.
35. Beach T. G., Walker D. G., Sue L. I., Newell A., Adler C. C., Joyce J. N. Substantia nigra Marinesco bodies are associated with decreased striatal expression of dopaminergic markers // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*— 2004.— Vol. 63, № 4.— P. 329–337.
36. Hirai S., Morimatsu M., Muramatsu A., Eto F., Yoshikawa M. Aging of the substantia nigra, with special reference to Marinesco body // *Nippon Ronen Igakkai Zasshi.*— 1977.— Vol. 14.— P. 6–13.
37. Quan L., Zhu B. L., Ishida K., Oritani S., Taniguchi M., Fujita M. Q., Maeda H. Intranuclear ubiquitin immunoreactivity of the pigmented neurons of the substantia nigra in fatal acute mechanical asphyxiation and drowning // *International journal of legal medicine.*— 2001.— Vol. 115, № 1.— P. 6–11.
38. Quan L., Zhu B. L., Oritani S., Ishida K., Fujita M. Q., Maeda H. Intranuclear ubiquitin immunoreactivity in the pigmented neurons of the substantia nigra in fire fatalities // *Int. J. Legal. Med.*— 2001.— Vol. 114, № 6.— P. 310–315.
39. Siddiqi Z. A., Peters A. The effect of aging on pars compacta of the substantia nigra in rhesus monkey // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*— 1999.— Vol. 58.— P. 903–920.
40. Paine S., Bedford L., Thorpe J. R., Mayer R. J., Cavey J. R., Bajaj N., Sheppard P. W., Lowe J., Layfield R. Immunoreactivity to Lys63-linked polyubiquitin is a feature of neurodegeneration // *Neurosci Lett.*— 2009.— Vol. 460, № 3.— P. 205–208.
41. Itoh K., Mitani M., Kawamoto K., Futamura N., Funakawa I., Jinnai K., Fushiki S. Neuropathology does not correlate with regional differences in the extent of expansion of CTG repeats in the brain with myotonic dystrophy type 1 // *Acta Histochem. Cytochem.*— 2010.— Vol. 43, № 6.— P. 149–156.
42. Tatton N. A. Increased caspase 3 and Bax immunoreactivity accompany nuclear GAPDH translocation and neuronal apoptosis in Parkinson's disease // *Exp. Neurol.*— 2000.— Vol. 166.— P. 29–43.

Поступила в редакцию: 29.04.2015 г.

Контакт: Григорьев Игорь Павлович, ipg-iet@yandex.ru

Сведения об авторах:

Григорьев Игорь Павлович — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии, Института экспериментальной медицины. Санкт-Петербург, Россия; 197376, ул. Акад. Павлова, 12., тел. 234-24-38, ipg-iet@yandex.ru;

Коржевский Дмитрий Эдуардович — д-р мед. наук, заведующий лабораторией функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии, Института экспериментальной медицины. Санкт-Петербург, Россия; 197376, ул. Акад. Павлова, 12, тел. 234-24-38, dek2@yandex.ru, ietmetcom@yandex.ru.

УДК 578.832.1

БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА СЫВОРОТОЧНЫХ АНТИТЕЛ К НЕЙРАМИНИДАЗЕ ВИРУСА ГРИППА

^{1,2}Ю. А. Дешева, ¹Т. А. Смолоногина, ¹Л. Г. Руденко

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

BIOLOGICAL AND PROTECTIVE PROPERTIES OF THE SERUM ANTIBODIES DIRECTED AGAINST INFLUENZA VIRUS NEURAMINIDASE

^{1,2}Yu. A. Desheva, ¹T. A. Smolonogina, ¹L. G. Rudenko

¹Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

²St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2015 г.

В лекции рассматриваются вопросы иммуногенности и протективности второго по значению антигенного компонента вируса гриппа — нейраминидазы (NA), а также обобщаются результаты разработки и применения метода для оценки сывороточных антител к NA вирусам гриппа пандемического и потенциально пандемических подтипов. Разработанная методика оценки антинейраминидазных антител может быть использована при характеристике популяционного иммунитета к гриппу, а также при изучении иммуногенности живых гриппозных вакцин (ЖГВ) как один из критериев регистрации препарата.

Ключевые слова: вирус гриппа, нейраминидаза, иммунные антисыворотки, антитела.

This lecture highlights issues of the immunogenicity and protective value of the second antigenic component of influenza virus — neuraminidase (NA), and summarizes the results of a method development for evaluation anti-NA serum antibodies directed against influenza viruses of pandemic and potentially pandemic subtypes. This technique can be used in the estimation of population immunity against the influenza viruses, as well as the study of the immunogenicity of live influenza vaccines (LAIV) as one of the criteria of vaccine registration.

Key words: influenza virus, neuraminidase, immune antisera, antibodies.

Введение. В основу современной классификации вирусов гриппа А семейства *Orthomyxoviridae* положены антигенные свойства поверхностных антигенов — гемагглютинина (HA) и нейраминидазы (NA). Всего к настоящему времени идентифицировано 18 подтипов HA и 11 подтипов NA вирусов гриппа А. Почти все эти подтипы встречаются у диких перелетных, в основном водоплавающих птиц, которые представляют собой естественный резервуар инфекции в природе, за исключением N10 и N11, которые недавно обнаружены у представителей отряда рукокрылых. Вирусы диких птиц обычно являются низкопатогенными, обитают в кишечнике птиц, выделяются наружу с фекалиями, не вызывая признаков заболевания и не подвергаясь антигенным изменениям в течение многих десятилетий. Однако при заносе к домашним птицам или животным такие вирусы могут претерпевать целый ряд изменений, в том числе и реассортаций, благодаря фундаментальной особенности сегментированно-

го генома вируса гриппа, перемешивание сегментов которого приводит к появлению новых генетических и антигенных разновидностей. В процессе приспособления к новым хозяевам вирусы гриппа могут приобретать признаки повышенной вирулентности, такие как высокорасщепляемый гемагглютинин или делеции в стеблевой части нейраминидазы, а также изменение рецепторной специфичности, вызывая спорадические вспышки заболевания с необычайно высокой смертностью. В 1997 г. инфекция человека вирусом птичьего гриппа А(H5N1) была впервые подтверждена в Гонконге во время массовой эпизоотии среди кур. Случаи заражения человека вирусом А(H5N1) с тяжелым течением болезни (быстрое развитие первичной вирусной пневмонии, дыхательной недостаточности и дисфункции внутренних органов) и необычайно высокой смертностью были зарегистрированы не только в Юго-Восточной Азии, но и в странах Северной Африки и Ближнего Востока. Начиная с 2002 г.,

были отмечены дрейфовые изменения НА вирусов гриппа А(Н5N1), которые в настоящее время сформировали несколько антигенных подгрупп. За это время общее число заболевших достигло 826, частота летального исхода 53% (данные на 31.03.2015).

Гемагглютинин является наиболее представленным в количественном отношении антигенным компонентом вируса гриппа; антитела к НА являются вирус-нейтрализующими и служат основным критерием оценки постинфекционного или поствакцинального гуморального иммунного ответа к гриппу. Однако при создании вакцин против антигенных вариантов вирусов гриппа с новым подтипом НА исследователи столкнулись с тем, что иммуногенность, оцениваемая по формированию антигемагглютинирующих антител, зачастую не соответствовала защитной эффективности вакцинных препаратов. В связи с этим на совещаниях Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) 2007–2009 гг. неоднократно указывалось на необходимость разработки новых и усовершенствования существующих методов оценки гуморального иммунитета к гриппу, отличных от выявления антигемагглютинирующих антител.

Антигенные свойства нейраминидазы. Так же как НА, нейраминидаза вируса гриппа подвергается антигенному дрейфу и антигенному сдвигу, или «шифту». Несмотря на то, что НА различных штаммов отличается по антигенным свойствам и структуре, этот белок катализирует одну и ту же ферментативную реакцию разрушения α -кетозидной связи N-ацетилнейраминовой кислоты. Нейраминидаза вируса гриппа является одной из наиболее охарактеризованных сиалидаз: известна пространственная структура НА нескольких подтипов вируса гриппа А и единственного подтипа вируса гриппа В, изучены механизмы действия фермента и последствия его ингибирования. Активный центр фермента содержит консервативную последовательность из 12 аминокислот, расположенную по центру каждой из четырех субъединиц в глубине рецепторного кармана, стенки и окружение которого также формируют аминокислоты, консервативные для вирусов гриппа А животных и человека различных подтипов, а также вирусов гриппа В. Еще в 1940-х годах XX века выдающийся австралийский вирусолог Ф. М. Бернет предположил, что конкурентный ингибитор НА вируса гриппа может стать эффективным терапевтическим средством. С тех пор НА чаще рассматривалась в качестве мишени для противовирусной терапии и гораздо менее изучена в контексте гуморального иммунитета. Известно, что антитела к нейраминидазе, присутствующие в сыворотках крови или носовых секретах, могут снижать тяжесть инфекции и препятствовать заражению вирусом с новым подти-

пом гемагглютинина. Рентгеноструктурный анализ и экспериментальные данные с использованием моноклональных антител подтвердили существование перекрывающихся антител-связывающих эпитопов в структуре НА различных подтипов.

Поскольку антитела к нейраминидазе блокируют ферментативную функцию НА, это и определяет возможные механизмы их защитного действия.

1. Антинейраминидазные антитела блокируют выход вирусного потомства из клетки на стадии отпочковывания зрелых вирусных частиц.

2. На начальном этапе инфекционного цикла вируса гриппа антинейраминидазные антитела с помощью стерического экранирования могут препятствовать присоединению НА к сиалированным рецепторам.

3. Блокирование проапоптотической функции НА, связанной с энзиматической активацией трансформирующего ростового фактора бета (удалением остатков сиаловой кислоты с олигосахаридных цепей N-концевого фрагмента незрелого TGF- β).

4. Препятствование активации нейраминидазой плазминогена — предшественника плазмина (сериновой протеазы, циркулирующей в кровотоке и отвечающей за деградацию многих белков плазмы крови). Активированный плазминоген разрывает пептидную связь между субъединицами гемагглютинина НА1 и НА2 без участия ферментов межклеточного пространства дыхательных путей, повышая тем самым вирулентность вирусов гриппа, что приводит к мультиорганному поражению организма хозяина, даже в отсутствие последовательности положительно заряженных аминокислот в сайте протеолитического расщепления гемагглютинина.

Кроме этого, присоединяясь к поверхности клетки, антитела к НА могут способствовать распознаванию зараженных клеток макрофагами и естественными киллерами (НК-клетками), опосредовать активацию системы комплемента в процессе комплемент-зависимой цитотоксичности.

Систематическое изучение роли антинейраминидазных антител в противогриппозном иммунитете началось в 70-х годах XX века. Так, в 1971 г. А. Н. Слепушкиным было показано, что высокий уровень антител к нейраминидазе перед вакцинацией ЖГВ препятствовал репродукции живого вакцинного вируса подтипа А(Н2N2). В 1980-е гг. на материале более чем 2300 парных сывороток пациентов, наблюдавшихся в течение 6 лет А. Н. Найхиным и соавт., было показано, что защитное действие антител к НА не уступает протективности антигемагглютинирующих антител; инфекция людей в возрасте от 0 до 50 лет с титрами сывороточных антител к НА

$\geq 1:40$ при низком уровне антигемагглютинирующих антител наблюдалась в 3–4 раза реже, чем среди серонегативных к двум поверхностным антигенам лиц. Лица с высоким исходным уровнем антител к НА и NA обладали наибольшей резистентностью к инфекции, что свидетельствовало о проявлении кооперативного действия двух видов антител. Кроме того, антинейраминидазные антитела более эффективно, чем антигемагглютинирующие, снижали тяжесть инфекционного процесса при сезонном гриппе А(Н1N1) и А(Н3N2).

Наиболее наглядные результаты, свидетельствующие о защитном действии антинейраминидазных антител, были получены американскими учеными во время пандемии «гонконгского» гриппа на контингенте лиц с заведомо отсутствующим или низким уровнем антител к НА. Среди наблюдаемого коллектива из 274 человек в возрасте от 20 до 45 лет частота серологически подтвержденного инфицирования новым вирусом А(Н3N2), пришедшего взамен вирусов А(Н2N2), в ноябре 1968 г. — январе 1969 г., а также доля лиц с выраженными клиническими симптомами, находились в обратной зависимости от уровня антител к N2, оцененного еще до начала циркуляции штамма нового подтипа. В рассматриваемом коллективе доля лиц с детектируемым титром антител к NA штамма А/Гонконг/1/68(Н3N2) составляла 42%. Однако лишь 8,8% обладали антинейраминидазными антителами в титре $\geq 1:16$, ассоциированном с 46,7% защитной эффективностью от инфицирования. Относительно низкий уровень коллективного иммунитета к NA штаммов А(Н2N2) у населения объясняет беспрепятственное распространение вируса нового подтипа А(Н3N2) в 1968 г., однако все же мог послужить причиной умеренной тяжести рассматриваемой пандемии в сравнении с последствиями экспансии «азиатского» гриппа в 1957 г.

Таким образом, было показано, что наличие у части людей перекрестно-реагирующих антител к NA, образовавшихся в результате контактов с ранее циркулирующими вариантами, может оказаться значимым в снижении смертности и ограничении распространения пандемии, вызванной вирусом гриппа с новым подтипом гемагглютинина.

Модифицированная реакция ингибирования нейраминидазы (РИНА). Методы, применявшиеся ранее для определения антинейраминидазных антител, имели целый ряд недостатков, таких как невозможность инструментального учета результатов, длительный каскад сложных реакций, использование токсичных реагентов (арсенит натрия и тиобарбитуровая кислота). До настоящего времени «золотым

стандартом» анализа, направленного на выявление антинейраминидазных антител, является тиобарбитуратный тест ингибирования нейраминидазной активности согласно протоколу, опубликованному в бюллетене ВОЗ в 1973 г., позднее преобразованному в микровариант. Из всего разнообразия существующих методик мы остановились на варианте твердофазной реакции ингибирования нейраминидазной активности (РИНА), для чего модифицировали методику, предложенную в 1990 г. С. R. Lambre, основанную на распознавании демаскированных нейраминидазой сахаридов высокомолекулярного субстрата фетуина с помощью пероксидазно-меченного лектина арахиса *Arachishypogaea*. При четкой корреляции результатов, полученных в классическом тиобарбитуратном методе и твердофазной РИНА, последний тест обладал на порядок большей чувствительностью и требовал гораздо меньших временных затрат. Для того чтобы избежать неспецифического реагирования с вирусом пандемического гриппа А(Н1N1) pdm, потенциально пандемическими А(Н5N1) и А(Н2N2), в отделе вирусологии ИЭМ методом классической генетической реассортации был подготовлен ряд реассортантных штаммов на основе вирусов гриппа лошади с подтипом гемагглютинина Н7. Состав и происхождение реассортантных штаммов, использовавшихся для изучения антинейраминидазных антител, указаны в табл. 1.

В России имелся успешный опыт применения реассортантов на основе вируса гриппа лошади А/лошадь/Прага/1/56(Н7N7) в реакции ингибирования элюирования вируса с эритроцитом, однако протокол реакции не был стандартизирован, требовал длительной экспозиции реакционной смеси и не предполагал инструментального учета результатов.

Преимущество предложенной нами методики заключается в следующем:

1) возможность проводить определение антител к NA в присутствии в исследуемых образцах антигемагглютинирующих антител к современным эпидемическим, пандемическим и предположительно пандемическим штаммам;

2) использование реассортантных вирусов предоставляет стабильный источник активной NA в нативной тетрамерной конформации;

3) метод не требует использования дорогостоящих генно-инженерных методик и специального оборудования;

4) метод дает возможность инструментального учета результатов, что обеспечивает высокий уровень стандартизации.

На рис. 1 представлен пример стандартизации рабочей дозы диагностических вирусов с гемагглю-

тинином подтипа Н7, которые мы использовали, оценивая состояние популяционного иммунитета к различным вирусам гриппа в одних и тех же сыворотках крови или при изучении иммуногенности гриппозных вакцин. Общая для всех штаммов рабо-

от людей, ни от животных. В отличие от предыдущих сезонных эпидемий, необычно тяжелая клиническая картина зачастую наблюдалась среди людей молодого и среднего возраста, в то время как пожилые люди перенесли пандемию сравнительно легко.

Таблица 1

Реассортантные вирусы, использованные для изучения антител к нейраминидазе вирусов гриппа различных подтипов

Название и подтип диагностического реассортантного вируса	Родительский вирус — источник НА	Вирус гриппа — источник НА	Характеристика вируса гриппа — источника нейраминидазы
RN1/09 — swine A(H7N1)	А/лошадь/Прага/1/56 (H7N7)	А/Калифорния/07/09 (H1N1)pdm	Возбудитель пандемии 2009 г.
RN1/09 — swine A(H7N1)*	А/лошадь/Прага/1/56 (H7N7)	А/Новая Каледония/05/99 (H1N1)	Вирус сезонного гриппа, циркулировавший с 1999 по 2009 г.
RN1/04 — avian A(H7N1)	А/лошадь/Прага/1/56 (H7N7)	А/Вьетнам/1203/2004 (H5N1)	Потенциально пандемический, выделенный во время вспышки заболевания в Юго-Восточной Азии в 2004 г.
RN2/57 — human A(H7N2)	А/лошадь/Прага/1/56 (H7N7)	А/Ленинград/134/17/57 (H2N2)	Пандемический вирус 1957 г., открывающий период циркуляции вирусов А(H2N2)

* Вирус подготовлен в ФГБУ «Институт гриппа» МЗ Российской Федерации сотрудником лаборатории гриппозных вакцин Н. Е. Горевым.

чая доза вируса, которая соответствовала 128 агглютинирующим единицам (АЕ), во-первых, принадлежала к диапазону линейной зависимости выхода продукта сиалидазной реакции при оптимуме рН буферного раствора от концентрации вируса, а во-вторых, обеспечивала достаточный уровень сигнала (оптическая плотность, ОП=0,4–0,6) при считывании результатов на спектрофотометре. Валидация полученных результатов была проведена при помощи РИНА по аналогичному протоколу с рекомбинантной тетрамерной НА (rNA) штамма А/Калифорния/04/2009(H1N1)pdm, экспрессируемой с плазмиды и секретируемой клетками НЕК293Т в виде не связанного с мембраной гликопротеина. Рекомбинантная НА была любезно предоставлена профессором П. Ротье, деканом ветеринарного факультета Утрехтского университета, где ранее проводилось изучение эффективности иммунизации препаратами НА и rNA на хорьках. Высокий уровень корреляции данных, полученных с помощью цельного вируса и rNA (коэффициент корреляции Спирмена $r_s=0,72$ ($p<0,0001$; $n=83$), свидетельствует о надежности данных, полученных с применением цельного реассортантного вируса.

В 2009 г. ВОЗ объявила о возникновении новой пандемии гриппа, вызванной вирусом гриппа А(H1N1)pdm, который прежде не выделялся ни

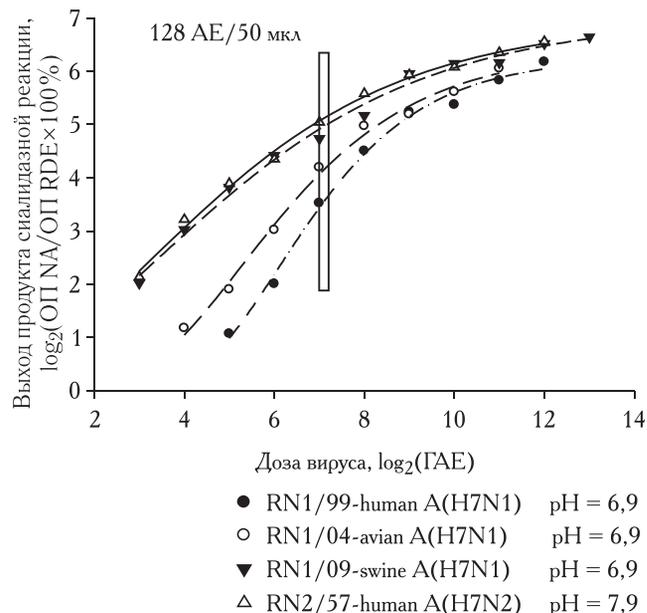


Рис. 1. Зависимость результата сиалидазной реакции от концентраций диагностических реассортантных штаммов.

В связи с этим сразу же после объявления пандемии начались исследования иммунного статуса к вирусам гриппа у различных групп населения. Оказалось, что даже через год после распространения пандемического штамма большинство людей не имело антиагглютинирующих антител к этому вирусу и уро-

вень коллективного иммунитета к нему оставался низким, намного ниже, чем к вытесненным из циркуляции сезонным вирусам А(Н1N1).

На рис. 2 представлены результаты обследования группы волонтеров разного возраста, проведенного нами осенью 2010 г., т. е. через год после появления пандемического вируса на территории Российской

иммунный ответ ко всем последующим антигенным вариантам, это же относится и к вакцинным вирусам и антигенам. У людей, родившихся в период циркуляции вирусов гриппа А(Н2N2) и А(Н3N2), титры антител к нейраминидазе подтипа N1 были самыми низкими, при этом выявлялся высокий уровень антител к HA пандемического вируса А(Н1N1)pdm, что

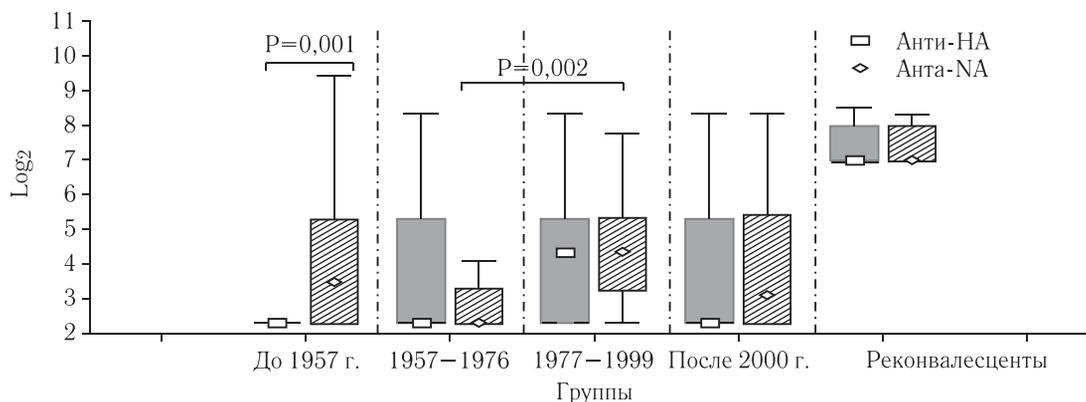


Рис. 2. Распределение сывороточных антител к пандемическому вирусу А/Калифорния/07/09(Н1N1)pdm среди волонтеров различного возраста, обследованных осенью 2010 г. (n=168). Коэффициент ранговой корреляции Спирмена $r_s=0,29$ (95% ДИ 0,01–0,54); $p<0,001$.

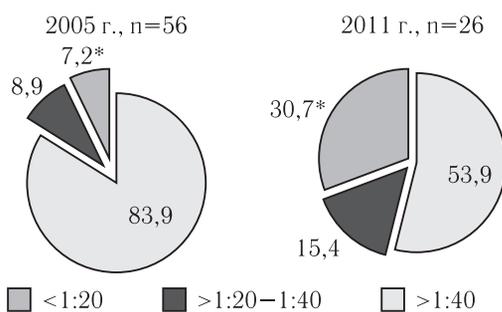
Федерации. Распределение обследуемых по годам рождения было сделано в соответствии с появлением и выходом из циркуляции различных вариантов вируса гриппа: до 1957 г. циркулировали вирусы А(Н1N1); с 1957 по 1977 г. — только вирусы А(Н2N2) и А(Н3N2); в 1977 г. к вирусам А(Н3N2) присоединились вирусы А(Н1N1); а в 1999 г. в циркуляции появился вирус А/Новая Каледония/20/99(Н1N1), который был одним из тестовых антигенов в этом исследовании. Оказалось, что группа участников старшего возраста, включающая людей, родившихся в 1920-е годы и, возможно, имевших контакт с вирусами А(Н1N1), подобными тем, что вызвали пандемию «испанки» в начале XX века, не имела антител к HA пандемического штамма А(Н1N1) 2009 г. В то же время у этой группы людей уровень антител к NA пандемического штамма был высоким, почти как у молодых людей. Это косвенно могло свидетельствовать о том, что встреча с новым пандемическим вирусом у людей этой возрастной группы проходила бессимптомно. При прицельном изучении происхождения антител к NA пандемического вируса было обнаружено, что несколько человек были серопозитивными к архивному вирусу подтипа А(Н1N1) А/Хабаровск/77, по-видимому, вследствие ранее перенесенной инфекции; и именно у этих лиц были обнаружены самые высокие титры антител к NA пандемического вируса (1 : 640–1 : 1280). Известно, что встреча организма с первым вирусом гриппа очень важна, поскольку именно этот праймирующий вариант определяет

могло свидетельствовать о более высокой частоте заболевания пандемическим гриппом по сравнению со старшей возрастной группой. Как и ожидалось, наиболее высокие уровни антител обнаружены у молодых взрослых и подростков как у наиболее социально активной группы и, конечно, самые высокие — среди лиц, недавно перенесших инфекцию (соответствуют 1 : 256–1 : 1024). Следует отметить, что уровни антител к HA и NA пандемического вируса А(Н1N1)pdm в одних и тех же парах сывороток далеко не всегда совпадали, коэффициент корреляции составил всего 0,29, что свидетельствовало о слабой связи между этими двумя показателями. Причиной такой дивергенции могут служить принадлежность антител к разным подклассам иммуноглобулинов, а также различия в сроках циркулирования.

Поскольку вирусы гриппа А(Н1N1) и А(Н5N1) содержат один и тот же подтип нейраминидазы, начало пандемии 2009 г. дало новый стимул к исследованиям по выявлению перекрестно-реагирующих предшествующих антител к этим вирусам. В 2008–2009 гг. в таких странах, как Австрия, Испания, Китай и Австралия, при исследовании партий донорского иммуноглобулина, полученного из сывороток крови волонтеров, ранее не имевших прямого контакта с вирусами гриппа птиц, были обнаружены антитела к NA вирусов А(Н5N1). Были основания полагать, что появление перекрестно-реагирующих антител к NA вирусов А(Н5N1) является результатом естественной инфекции эпидемическими штаммами подтипа А(Н1N1). Действительно, данные филогенетиче-

ского анализа первичных последовательностей NA подтипа N1, взятых из базы данных вирусов гриппа Национального центра биотехнологической информации, показали, что вирусы птичьего гриппа A(H5N1) периода 2003–2010 гг. обладали значительной степенью гомологии (81–83%) аминокислотной последовательности NA как с эпидемическими штаммами A(H1N1) 1999–2009 гг., так и с пандемическими вирусами A(H1N1). В наших исследованиях было обнаружено содержание перекрестно-реагирующих антител к NA вируса A/Вьетнам/1203/2004 (H5N1) в сыворотках крови волонтеров, обследованных в 2005 г. перед прививкой трехвалентной сезонной ЖГВ. Проведенная вакцинация стимулировала повышение средних титров антинейраминидазных антител как к компоненту A(H1N1), входившему в состав ЖГВ (в 2 раза), так и антигенно удаленному A/Вьетнам/1203/2004(H5N1) (в 1,3 раза).

Однако самые значительные перемены в уровнях перекрестно-реагирующих антител к NA вируса A/Вьетнам/1203/2004(H5N1) произошли после внедрения в циркуляцию пандемического штамма A(H1N1) pdm. К концу 2011 г. средние титры перекрестно-реагирующих антинейраминидазных антител у волонтеров 18–20 лет к вирусу гриппа A/Вьетнам/1203/2004(H5N1) увеличились уже в 3 раза по сравнению с данными 2005 г. ($p=0,04$). Доля лиц с детектируемым уровнем этих антител (титры 1:20–1:40) среди обследованных возросла с 16,1% до 46,1%, а уровень коллективного иммунитета, определяемый по числу лиц с титрами >1:40 — с 7,2% до 30,7% ($p=0,002$) (рис. 3). Всего из 246



* $p=0,002$.

Рис. 3. Изменения в распределении титров антител к NA вируса A/Вьетнам/1203/2004(H5N1) у волонтеров 18–20 лет после вступления в циркуляцию пандемического вируса A(H1N1)pdm.

обследованных волонтеров в возрасте от 1 года до 80 лет, обследованных в 2011 г., у 17,9% (95%CI, 13,6–23,2%) были выявлены антитела к NA вируса A(H5N1) в титрах $\geq 1:40$.

Таким образом, применение модифицированной методики позволило выявить в более чем 500 сыво-

ротках крови обследованных волонтеров наличие как гомологичных антител к NA вируса пандемического гриппа A(H1N1)pdm, так и перекрестно-реагирующих антител к NA вируса пандемического гриппа A(H1N1)pdm A/Вьетнам/1203/2004(H5N1).

То обстоятельство, что уровни циркулирующих антител, определяемых в РТГА и РИНА не коррелировали между собой, открывало возможность существенно дополнить картину иммуногенности при изучении новых гриппозных вакцин, особенно разрабатываемых против «шифтовых» вариантов вирусов гриппа с новым подтипом гемагглютинина.

Оценка иммуногенности ЖГВ, разрабатываемой против пандемического и потенциально пандемического гриппа. Ранее отмеченная автономность иммунного ответа к двум поверхностным гликопротеинам вируса гриппа подтвердилась также и при оценке иммуногенности живой гриппозной вакцины, вводимой интраназально. На рис. 4 представлены данные изучения различных составляющих гуморального поствакцинального иммунного ответа в ответ на применение ЖГВ против сезонного, пандемического и потенциально пандемического гриппа. Так, достоверные приросты титра сывороточных антител к NA сезонного вируса A/Новая Каледония/20/99(H1N1) с равной долей вероятности отмечались у лиц, как ответивших, так и не ответивших на прививку трехвалентной ЖГВ сероконверсией антигемагглютинирующих антител компоненту A(H1N1) (двусторонний вариант точного критерия Фишера: $p=1,0$; $n=29$) (рис. 4, а).

При изучении иммуногенности моновалентной вакцины против пандемического гриппа A(H1N1)pdm частота совпадения результатов РТГА и ингибирования сиалидазной активности NA в плане выявления или невыявления сероконверсий к HA и NA в одних и тех же парах сывороток крови двукратно привитых волонтеров составила 64,7% (см. рис. 4, в). Двусторонний вариант точного критерия Фишера не выявил статистической взаимосвязи между сероконверсиями антител к двум поверхностным гликопротеинам вируса у одних и тех же лиц ($p=0,24$). Интересно, что если после ревакцинации сероконверсии к HA вакцинного вируса встречались в 5 раз чаще, чем приросты только антинейраминидазных антител, то при однократной иммунизации сероконверсии, хоть и немногочисленные, наблюдались только в отношении антител к NA. По-видимому, в этом случае свою роль сыграли предшествующие контакты населения с эпидемическими штаммами A(H1N1), которые демонстрировали расхождение на 28,4% в молекулярной структуре субъединицы гемагглютинина HA1 с пан-

демическим вирусом и только на 18,7% — с аминокислотной структурой NA. Ведь, как было показано ранее, праймирование людей или подопытных животных при последующей инфекции вирусом гриппа в условиях антигенного сдвига HA, но при относительной антигенной стабильности NA является предпосылкой к преодолению антигенной конкуренции между HA и NA.

приросты сывороточных антител выявлялись только в реакции микронейтрализации, 7,3% привитых лиц демонстрировали иммунный ответ исключительно к NA вакцинного штамма. Расширенный статистический анализ позволил выявить статистическую взаимосвязь средней силы (критерий V Крамера = 0,33; $p=0,04$) между сероконверсиями нейтрализующих и антинейраминидазных антител, и оказалось, что

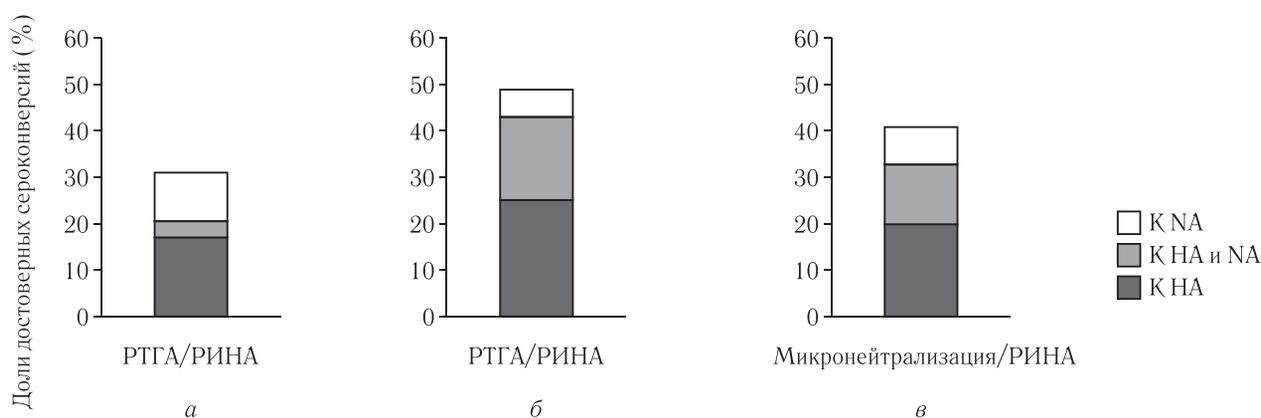


Рис. 4. Согласованность сероконверсий антител к HA и NA при иммунизации ЖГВ. Достоверной сероконверсией антител в РТГА и реакции микронейтрализации считался прирост титра в 4 и более раз; для антинейраминидазных антител достоверной сероконверсией считался прирост титра в 2 и более раз: а — иммунизация трехвалентной сезонной ЖГВ состава, рекомендованного на 2005 г., однократно; согласованность сероконверсий к компоненту A(H1N1) сезонной трехвалентной вакцины 72,4% ($p=1,0$); б — иммунизация моновалентной ЖГВ пандемического подтипа A(H1N1)pdm, двукратно; согласованность сероконверсий к поверхностным антигенам вируса A(H1N1)pdm2009 — 64,7% ($p=0,24$); в — иммунизация моновалентной ЖГВ «Орвакс» потенциально пандемического подтипа A(H5N2); согласованность сероконверсий нейтрализующих и антинейраминидазных антител — 73,2% ($p=0,084$).

На рис. 4, в представлены данные о степени согласованности сероконверсий после иммунизации ЖГВ «Орвакс», которая была первой отечественной ЖГВ, разработанной против потенциально пандемического гриппа с гемагглютинином подтипа H5. Вакцинный штамм A/17/утка/Потсдам/86/92(H5N2) содержал нейраминидазу подтипа N2, в отличие от высокопатогенных вирусов A(H5N1); тем не менее, ЖГВ «Орвакс» защищала от летальной инфекции и высокопатогенными вирусами A(H5N1), как было показано в экспериментах на мышах и обезьянах. В клиническом изучении ЖГВ «Орвакс» после двукратной интраназальной иммунизации волонтеров оказалось, что уровень антинейраминидазных антител намного лучше коррелировал с антителами, выявляемыми в реакции микронейтрализации, чем с антигемагглютинирующими антителами. Необходимо отметить, что реакция микронейтрализации (РН) проводится в клеточной культуре MDCK и является биологическим тестом, воспроизводящим биологическое противовирусное действие иммунных сывороток *in vitro*. Процент совпадения результатов двух тестов (РН и твердофазной РИНА) в одних и тех же парах сывороток крови вакцинированных волонтеров составил 73,2%; у 19,5% вакцинированных достоверные

вероятность обнаружения сероконверсий антинейраминидазных антител была статистически значимо — в 3,59 раза (95% ДИ: 1,01–12,80) — выше для группы лиц с достоверным приростом нейтрализующих антител. Подобный эффект может объясняться более широким спектром иммуноглобулинов, включающем в том числе и антинейраминидазные антитела, участвующих в нейтрализации вируса наряду с антигемагглютинирующим и антителами в клеточной культуре. При этом имела место обратная зависимость интенсивности антителообразования к NA вакцинного вируса от исходного уровня антинейраминидазных антител. Так, статистически значимое увеличение титра антител к NA через три недели после ревакцинации было получено при исходных титрах $\leq 1:20$ ($p=0,002$), но не для серопозитивных лиц с медианой титра $1:123,3$ ($p=0,13$).

Таким образом, результаты нескольких клинических исследований, включающих моновалентную и поливалентную ЖГВ, показали, что от 6 до 33% привитых волонтеров демонстрировали достоверный прирост титров сывороточных антител к NA вакцинного штамма в отсутствие сероконверсий гомологичных антигемагглютинирующих антител. Данные об отсутствии достоверных сероконверсий у лиц

Таблица 2
Иммуногенность и защитное действие вакцинации очищенными препаратами нейраминидазы и цельными вирусами на модели мышей

Препарат	Происхождение NA	Доза, кратность, путь введения	Уровень антител к NA заражающего вируса (РГА, СГТ)	Уровень антител к NA, Me(Q1;Q3), log2	Кратность снижения титров заражающего вируса в легких
Рейнфекция 30 МИД ₅₀ штамма А/Пуэрого Рико/8/34(Н1N1) на 21-е сутки после ревакцинации			<5,0	5,1 (3,6; 5,6)	4
Очищенная NAA/Калифорния/07/09 (H1N1)pdm	А(Н1N1)рdm	5,0 мкг, двукратно с интервалом в 21 день, в/м			
Штамм RN1/09-swine A(H7N1)	А(Н1N1)рd/m	300 МИД ₅₀ /0,05 мл, двукратно с интервалом в 21 день, и/н	<5,0	нд	10
Штамм для ЖГВ А/17/Калифорния/09/38 (H1N1)	А(Н1N1)рdm	6,2 lg ЭИД ₅₀ /0,05 мл, двукратно с интервалом в 21 день, и/н	<5,0	5,6 (5,2; 6,2) ρ=0,003*	40 ρ=0,002
Рейнфекция 50 МИД ₅₀ штамма PR8/H5N1-RG(H5N1) на 21-е сутки после второй иммунизации			<5,0	3,9 (3,8; 4,1)	2
Очищенная NA PR8/H5N1-RG	А/Вьетнам/1203/04(H5N1)	10,0 мкг, двукратно с интервалом в 21 день, в/м			
Штамм RN1/04-avian A(H7N1)	А/Вьетнам/1203/04(H5N1)	300 МИД ₅₀ /0,05 мл, двукратно с интервалом в 21 день, интраназально	<5,0	нд	32 ρ=0,004
Штамм PR8/H5N1-RG	А/Вьетнам/1203/04(H5N1)	25 МИД ₅₀ /0,05 мл, однократно на 21-е сутки, и/н	25,9	6,5 (6,0; 7,0)	2×10 ⁵
Заражение мышей 1000 МИД ₅₀ /0,05 мл штамма А/Калифорния/07/09(H1N1)рdm на 21-е сутки после ревакцинации			<5,0	5,4 (5,0; 6,5) ρ=0,006	10 ρ=0,02
Очищенная NA А/Калифорния/07/09 (H1N1)рdm	А(Н1N1)рdm	1,0 мкг с добавлением неполного адъюванта Фрейнда, двукратно с интервалом в 21 день, в/м			

* Значения ρ даны по сравнению с аналогичными показателями в группе интактных животных.

с высокими уровнями антинейраминидазных антител до прививки свидетельствуют о необходимости более тщательного изучения иммунологического фона до прививки. Сочетание традиционной РТГА с выявлением антинейраминидазных антител, может обеспечивать более полную оценку иммуногенности вакцинного препарата.

Защитная эффективность сывороточных антинейраминидазных антител при моделировании гриппозной инфекции на мышах. Если мнения исследователей сходятся в отношении положительного влияния предсуществующих антинейраминидазных антител на возможный исход заболевания, вызванного «шифтовым» вариантом возбудителя, то данные литературы о пороговом титре антител к NA, который ассоциировался бы с возможностью быстрой элиминации вируса из организма, различны — от 1:16 до 1:80. Для моделирования иммуногенности и защитной эффективности NA, вводимой в очищенном виде и в составе вирусных частиц, мы использовали экспериментальную модель линейных мышей. Результаты представлены в табл. 2.

Парентеральная иммунизация животных очищенной NA штамма А/Калифорния/07/09 (H1N1) и А/Вьетнам/1203/2004×PR8 IBCDC-RG(H5N1) без добавления адъюванта не приводила к активной стимуляции выработки антинейраминидазных антител и снижению уровня репродукции вируса в легких при реинфекции штаммами с гомологичной или антигенно удаленной N1. Защитная эффективность интраназальной иммунизации реассортантными штаммами RN1/04-avian A(H7N1) и RN1/09-swine A(H7N1) в аналогичных условиях реинфекции составила 12,5–20,0% со снижением легочного титра заражающего вируса с нерелевантным HA в 10–40 раз. Известно, что свойства NA в растворе отличаются от мембранной формы: в составе вириона NA представляет собой тетрамер, в то время как в растворе, судя по данным литературы, в основном — димер, соответственно меняется активность фермента, что может сказываться на иммуногенности. В связи с этим мы провели дополнительную серию опытов по иммунизации мышей мультимерной гNA штамма A(H1N1)pdm 2009. Двукратная парентеральная иммунизация животных гNA в смеси с неполным адъювантом Фрейнда продемонстрировала иммуногенность и защитную эффективность, проявившуюся в 10-кратном снижении репродукции гомологичного штамма в нижних отделах респираторного тракта.

Таким образом, опыты по иммунизации мышей препаратами NA и цельными вирусами еще раз подтвердили обширные опубликованные данные по защитной эффективности антинейраминидазных антител, проявляющейся в снижении уровня репродукции инфекционного агента в легких иммунных животных при заражении штаммом вируса гриппа с гомологичной NA. Иммуногенность нейраминидазы зависела от формы антигена. Достоверное снижение легочной инфекции заражающим вирусом при отсутствии антигемагглютинирующих антител наблюдалось при титре антител к NA не ниже чем 1:40.

Заключение. Подготовка соответствующей методологической базы открыла возможность изучения вопроса о предполагаемом вкладе антинейраминидазных антител в гетеросубтипическую защиту в условиях смены подтипа гемагглютинина. Впервые обнаружены перекрестно-реагирующие антитела к нейраминидазе штамма A(H1N1)pdm09 в сыворотках крови лиц, серонегативных к HA пандемического вируса, но позитивных к эпидемическим штаммам A(H1N1), включая архивные штаммы. Самый низкий уровень антител к NA подтипа N1 отмечен в группе волонтеров родившихся с 1957 по 1976 г., когда циркулировали вирусы гриппа подтипов A(H2N2) и A(H3N2). В клинических испытаниях ЖГВ установлено, что определение антител к нейраминидазе вакцинных штаммов существенно расширяет представление о формировании гуморального поствакцинального иммунного ответа.

На модели мышей продемонстрировано защитное действие циркулирующих антител к NA, которое проявлялось в снижении репродукции заражающих вирусов в легких после реинфекции и зависело от формы антигена.

Если на сегодняшний день доказано перекрестное реагирование сывороточных антител к нейраминидазе в пределах одного подтипа N1, то остается невыясненной возможность перекрестного реагирования между подтипами, хотя такие предпосылки есть, учитывая данные о консервативных эпитопах в структуре NA вирусов гриппа А и В, а также недавно проведенные исследования с моноклональными антителами, которые проливают свет на возможные механизмы присоединения перекрестно-реагирующих антител. Кроме этого, неизученными остаются вопросы о значении антинейраминидазных антител в процессе передачи вируса, а также в защите от бактериально-вирусной инфекции. Эти вопросы предстоит изучить в будущих исследованиях.

Литература

1. Килбурн Э. Д. Вирусы гриппа и грипп // Биологически активные белки вируса гриппа. Нейраминидаза: пер. с англ.— М.: Медицина, 1978.— 309 с.
2. Смолоногина Т. А., Дешева Ю. А., Шалджян А. А., Грудинин М. П., Руденко Л. Г. Определение антител к нейраминидазе вируса гриппа А/Калифорния/07/2009(H1N1) // ЖМЭИ.— 2011.— № 6.— С. 72–76.
3. Смолоногина Т. А., Дешева Ю. А., Горев Н. Е., Руденко Л. Г. Оценка антинейраминидазных антител у волонтеров, привитых сезонной трехвалентной живой гриппозной вакциной // Медицинский академический журнал.— 2011.— № 3.— С. 44–50.
4. Смолоногина Т. А., Дешева Ю. А., Рекстин А. Р., Миронов А. Н., Руденко Л. Г. Оценка антинейраминидазных антител в клинических испытаниях живой гриппозной вакцины «Орвакс» подтипа А(H5N2) // Вопр. вирусологии.— 2013.— № 6.— С. 31–35.
5. Смолоногина Т. А., Дешева Ю. А., Руденко Л. Г. Твердофазная реакция ингибирования сиалидазной активности для определения антител к нейраминидазе вируса гриппа при инфекции и вакцинации // Медицинский академический журнал.— 2012.— Т. 12, № 4.— С. 54–56.
6. Штыря Ю. А., Мочалова Л. В., Бовин Н. В. Нейраминидаза вируса гриппа: структура и функция // Acta naturae.— 2009.— № 2.— С. 28–34.
7. Desheva Y. A., Smolonogina T. A., Donina S. A., Rudenko L. G. Serum strain-specific or cross-reactive neuraminidase inhibiting antibodies against pandemic A/California/07/2009(H1N1) influenza in healthy volunteers // BMC Res Notes.— 2015.— Vol. 8.— P. 136.
8. Desheva Y., Smolonogina T., Rudenko L. Detection of anti-neuraminidase antibody in preclinical and clinical studies of live influenza vaccine // Influenza and other respiratory viruses.— 2011.— Vol. 5, Suppl. 1.— P. 370–372.

Поступила в редакцию: 11.05.2015 г.

Контакт: Дешева Юлия Андреевна, desheva@mail.ru

Сведения об авторах:

Дешева Юлия Андреевна — ведущий научный сотрудник, д-р мед. наук; ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; профессор, СПбГУ, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9, тел. (812) 234-42-92; e-mail: desheva@mail.ru;

Смолоногина Татьяна Анатольевна — старший научный сотрудник, канд. биол. наук, ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: smolonogina@mail.ru, тел. (812) 234-42-92;

Руденко Лариса Георгиевна — заведующая отделом, д-р мед. наук, профессор, ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12, тел. (812) 234-92-14; e-mail: vaccine@mail.ru.

Наши подписные индексы:

Агентство «Роспечать» — **57999**

Объединенный каталог «Пресса России» — **42190**

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.12-07:616.127-004:616-08-07

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ TGF- β_1 В ЛЕВЫХ И ПРАВЫХ ОТДЕЛАХ СЕРДЦА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ АДРЕНЕРГИЧЕСКОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОМ СТРЕССЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ¹В. Р. Вебер, ²Ю. В. Лобзин, ¹М. П. Рубанова, ¹С. В. Жмайлова, ¹П. М. Губская, ²В. Е. Карев,
¹Е. Е. Румянцев¹Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого, Великий Новгород, Россия
²НИИ Детских инфекций ФМБА России. Санкт-Петербург, РоссияSPECIFIC FEATURES OF TGF- β_1 EXPRESSION IN THE LEFT AND RIGHT HEART SEGMENTS DURING EXPERIMENTAL CHRONIC ADRENERGIC AND CHOLINERGIC STRESS¹V. R. Veber, ²Yu. V. Lobzin, ¹M. P. Rubanova, ¹S. V. Zhmailova, ¹P. M. Gubskaya, ²V. E. Karev,
¹Ye. Ye. Rumyantsev¹Yaroslav-the-Wise Novgorod State University, Veliky Novgorod, Russia;
²Research Institute of Children Infections, St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2015 г.

В работе изучены особенности экспрессии трансформирующего фактора роста фибробластов в миокарде левых и правых отделов сердца при экспериментальном моделировании хронического адренергического стресса (ХАС) и хронического холинергического стресса (ХХС) у крыс линии Вистар. Результаты исследования показали, что экспрессия TGF- β_1 при моделировании ХАС была значительно более выражена в правом предсердии (ПП) по сравнению с левым предсердием (ЛП). В то же время индекс активности эндотелиоцитов по экспрессии TGF- β_1 в правом предсердии при моделировании ХХС был достоверно ниже чем в ЛП при ХХС и в обоих предсердиях при ХАС. Между левым желудочком (ЛЖ) и правым желудочком (ПЖ) при обоих вариантах стресса значительных различий в выработке TGF- β_1 не выявлено, но отмечена тенденция к большей экспрессии TGF- β_1 в ПЖ при ХАС. Показано, что если между ЛП и ЛЖ достоверных различий в выработке TGF- β_1 не отмечалось при обоих вариантах стресса, в ПП по сравнению с ПЖ при ХАС экспрессия TGF- β_1 была значительно выше, а при ХХС имела тенденцию к увеличению.

Авторами высказывается мнение о «мозаичности» выработки TGF- β_1 в предсердиях и желудочках при хроническом стрессе, что может привести к различиям в ремоделировании различных отделов сердца.

Ключевые слова: крысы линии Вистар, адреналин, прозерин, хронический стресс, трансформирующий фактор роста фибробластов TGF- β_1 , левый желудочек, правый желудочек, левое предсердие, правое предсердие.

Studied was the expression of transforming growth factor β_1 in the myocardium of the left and right heart segments during experimental chronic adrenergic stress (CAS) and chronic cholinergic stress (CCS) in Wistar rats. TGF- β_1 expression during CAS was significantly elevated in the right atrium (RA) in comparison with the left atrium (LA). On the contrary, endothelial TGF- β_1 expression in the right atrium during CCS was significantly lower than in the left atrium. No significant differences in TGF- β_1 expression were found between the left ventricle (LV) and right ventricle (RV) in the models, CAS and CC; however, there was a trend to a higher expression of TGF- β_1 in RV during CAS. The results suggest that there are no significant difference in TGF- β_1 expression between heart ventricles; however, during CAS, TGF- β_1 expression is significantly higher in right atrium compared with the right ventricle, and a similar trend is observed during CCS.

These findings demonstrate a «mosaic» pattern of TGF- β_1 expression in heart atria and ventricles during chronic stress, which can cause differences in the remodeling of the various parts of the heart.

Key words: Wistar rats, epinephrine, neostigmine, chronic stress, TGF- β_1 , left ventricle, right ventricle, left atrium, right atrium.

Введение. Представляет интерес изучение вопроса особенностей фиброгенеза в левых и правых отделах сердца. Известно, что трансформирующий фактор роста фибробластов- β_1 (TGF- β_1) спо-

собен стимулировать развитие миокардиального фиброза и запускать процессы эндотелиально-мезенхимальной трансформации [1–4]. В эксперименте на крысах иммуногистохимическим методом были исследованы особенности экспрессии TGF- β_1 в миокарде левого и правого предсердий и левого и правого желудочков при моделировании различных вариантов хронического стресса.

Цель исследования: изучить особенности экспрессии трансформирующего фактора роста фибробластов в миокарде левых и правых отделов сердца при экспериментальном моделировании хронического адренергического стресса и хронического холинергического стресса.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проводился на крысах-самцах линии Вистар, сопоставимых по возрасту и массе, в соответствии с Европейской конвенцией о защите животных, используемых в эксперименте (Директива 86/609/ЕЕС). Протокол эксперимента, содержание животных и выведение их из опыта были составлены в соответствии с принципами биоэтики, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и приказе МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Моделирование хронического стресса проводилось на 2 сериях крыс (по 20 крыс в каждой серии). Моделирование хронического адренергического стресса (ХАС) — крысам 1-й серии 3 раза в день в течение 2 недель интраперитонеально вводился адреналин из расчета 50 мкг/кг (доза адреналина подбиралась эмпирически, и главным условием было отсутствие при данной дозе некроза кардиомиоцитов). Моделирование хронического холинергического стресса (ХХС) — крысам 2-й серии 3 раза в день в течение 2 недель интраперитонеально вводился антихолинэстеразный препарат прозерин из расчета 20 мкг/кг. Через 2 недели введения адреналина и прозерина, под эфирным наркозом проводилась декапитация животных и забор материала на исследование.

Кусочки тканей фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, дегидратировали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин-целлоидин.

Имуногистохимические исследования проводились с использованием автоматической установки для иммуногистохимического и иммуноцитологического окрашивания препаратов Autostainer 360 (Thermo Shandon, Великобритания). Использовались мышечные моноклональные антитела к TGF- β_1 (ТВ21) в разведении 1/100, а также полимерная иммуноги-

стохимическая система визуализации EnVision (ДАКО, США) в соответствии с рекомендациями производителей реагентов. В качестве оптически плотной метки, визуализирующей продукт иммуногистохимической реакции, использовался диаминобензидин. После проведения иммуногистохимической реакции гистологические препараты докрашивались гематоксилином. Учет результатов иммуногистохимической реакции проводился с использованием светооптического бинокулярного микроскопа AxioscopeA1 (Carl Zeiss, Германия), TGF- β_1 -позитивные клетки имели отчетливое коричневое окрашивание. По степени окрашивания выделяли клетки с сильной, средней и слабой экспрессией. В анализ включались только клетки с сильной и средней экспрессией. В 9 полях зрения миокарда левого предсердия (ЛП), левого желудочка (ЛЖ), правого предсердия (ПП) и правого желудочка (ПЖ) каждой крысы в проводимом эксперименте рассчитывался индекс экспрессии (ИЭ) — количество TGF- β_1 -позитивных клеток в 1 мм² миокарда. Площадь 1 поля зрения, с учетом увеличения микроскопа, составляла 0,088 мм² (из расчета длина изображения 0,355 мм, умноженная на ширину изображения 0,248 мм). Также определялся индекс активности (ИА) эндотелиоцитов, который рассчитывался как % эндотелиоцитов, экспрессирующих фактор роста фибробластов TGF- β_1 от общего количества клеток, экспрессирующих TGF- β_1 (%).

При подсчете TGF- β_1 -позитивных клеток учитывались только клетки с сильной и средней экспрессией трансформирующего фактора роста фибробластов.

Результаты исследования. Результаты исследования экспрессии TGF- β_1 в левом предсердии и в правом предсердии показали (рис. 1, таблица), что при ХАС количество клеток с сильной и средней экспрессией TGF- β_1 в ПП было в 2,1 раза больше, чем в ЛП (ИЭ составил 52,3 кл/мм² и 24,5 кл/мм², соответственно; $\chi^2=4,544$; $p=0,033$).

При ХХС экспрессия TGF- β_1 была примерно одинакова в обоих предсердиях (ИЭ=37,1 кл/мм² в ЛП и 41,7 кл/мм² в ПП, $p>0,05$).

Из числа позитивных клеток были выделены эндотелиоциты, экспрессирующие TGF- β_1 . В ПП (см. таблицу), наблюдалась тенденция к увеличению экспрессии эндотелиоцитами TGF- β_1 при ХАС по сравнению с ХХС (23,7 кл/мм² и 9,6 кл/мм², соответственно, $\chi^2=3,446$; $p=0,063$). Показатель индекса активности эндотелиоцитов в ПП был несколько ниже при ХХС (ИА=23,03%) по сравнению с ХАС (ИА=45,4%) ($\chi^2=3,501$; $p=0,061$). Необходимо отметить также, что ИА эндотелиоцитов при адренергическом варианте хронического стресса

был одинаков как в ЛП (50,5%) и в ПП (45,5%), так и в ЛП при ХХС (49,7%). В то же время в ПП при ХХС индекс активности эндотелиоцитов был достоверно ниже и составил 23,03% ($\chi^2=4,934$; $p=0,026$). То есть, при ХХС индекс активности эндотелиоцитов в ПП был меньше.

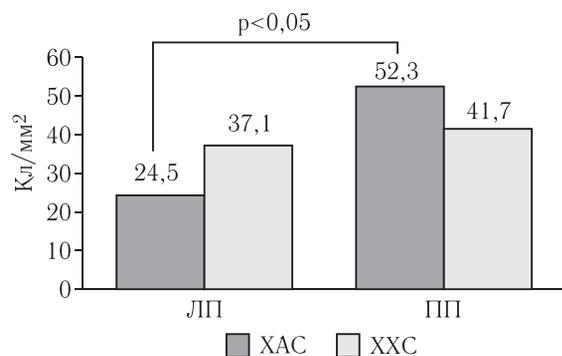


Рис. 1. Индекс экспрессии TGF- β_1 в миокарде левого и правого предсердий при хроническом адренергическом стрессе (ХАС) и хроническом холинергическом стрессе (ХХС).

Прежде всего, эти различия проявляются тем, что в предсердиях имеются участки, лишенные мышечных волокон, особенно в стенке правого предсердия. Другой особенностью строения стенки предсердий является то, что каждый элемент структурной организации предсердий окружен соединительной тканью. Так, капилляры окружены паравазальной соединительной тканью, иногда по толщине превышающей просвет капилляра. С учетом того, что соединительная ткань в ПП физиологически представлена больше, то при сравнении двух вариантов хронического стресса более сильное негативное влияние оказывает ХАС, поскольку количество клеток, экспрессирующих TGF- β_1 при ХАС в 2,1 раза в ПП больше, чем в ЛП. Столь высокая экспрессия TGF- β_1 в миокарде ПП предполагает и более выраженные тканевые эффекты этого фактора роста фибробластов и более выраженное развитие фибротических процессов в правом предсердии.

Таблица

Экспрессия TGF- β_1 при хроническом адренергическом и хроническом холинергическом стрессе в левых и правых отделах сердца

Показатель	ЛП n=45	ЛЖ n=45	ПП n=45	ПЖ n=45	Достоверность различий, p			
	1	2	3	4	1-2	3-4	1-3	2-4
Хронический адренергический стресс								
ИЭ клетками (сильн.)	7,8	5,05	16,9	3,03	НД	$\chi^2=6,79$ $p=0,009$	НД	НД
ИЭ клетками (средн.)	16,7	31,6	35,4	15,7	НД	$\chi^2=3,87$ $p=0,049$	$\chi^2=3,34$ $p=0,068$	НД
ИЭ клетками (сильн.+средн.)	24,5	36,6	52,3	18,7	НД	$\chi^2=8,01$ $p=0,005$	$\chi^2=4,54$ $p=0,033$	$\chi^2=2,99$ $p=0,083$
ИЭ эндотелиоцитами (сильн.+средн.)	12,4	21,7	23,7	11,1	НД	НД	НД	НД
Индекс активности эндотелиоцитов, %	50,5	59,3	45,4	59,5	НД	НД	НД	НД
Хронический холинергический стресс								
ИЭ клетками (сильн.)	12,6	7,1	10,9	3,8	НД	НД	НД	НД
ИЭ клетками (средн.)	24,5	24,7	30,8	16,7	НД	НД	НД	НД
ИЭ клетками (сильн.+средн.)	37,1	31,8	41,7	20,5	НД	$\chi^2=3,55$ $p=0,060$	НД	НД
ИЭ эндотелиоцитами (сильн.+средн.)	18,4	16,4	9,6	10,1	НД	НД	НД	НД
Индекс активности эндотелиоцитов, %	49,7	52,4	23,03	49,4	НД	$\chi^2=4,64$ $p=0,031$	$\chi^2=4,93$ $p=0,026$	НД

Различия в экспрессии трансформирующего фактора роста фибробластов в левом и правом предсердиях можно объяснить морфологическими особенностями левых и правых отделов. Анатомические различия левого и правого предсердий у млекопитающих незначительны, но все же они имеются.

Исследование экспрессии трансформирующего фактора роста фибробластов в миокарде желудочков (см. таблицу) не выявило достоверных различий в выработке TGF- β_1 при адренергическом варианте хронического стресса в ЛЖ и в ПЖ, однако отмечена тенденция к увеличению сильной и средней экспрессии

клетками TGF- β_1 в ЛЖ (ИЭ=36,6 кл/мм²) по сравнению с ПЖ (ИЭ=18,7 кл/мм²) ($\chi^2=2,998$; $\rho=0,083$). Обращает на себя внимание, что если в ЛП и в ЛЖ экспрессия TGF- β_1 была примерно одинакова, то в ПП, по сравнению с ПЖ, экспрессия трансформирующего фактора роста фибробластов была значительно больше (см. таблицу): ИЭ клеток с сильной экспрессией TGF- β_1 в ПП составил 16,9 кл/мм², а в ПЖ ИЭ=3,03 кл/мм² ($\chi^2=6,789$; $\rho=0,009$) и общее количество клеток с сильной и средней экспрессией TGF- β_1 в ПП был в 2,7 раза больше, чем в ПЖ (52,3 кл/мм² и 18,7 кл/мм² соответственно; $\chi^2=8,006$; $\rho=0,005$).

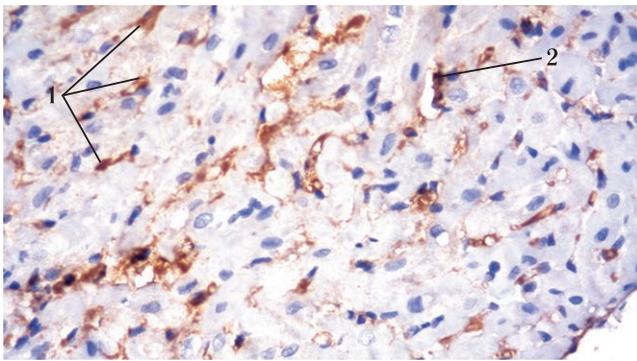


Рис. 2. Миокард правого предсердия крысы после 2 недель введения адреналина при моделировании ХАС, ув. $\times 400$, ИГХ-реакция. Клетки, экспрессирующие TGF- β_1 , окрашены DAB в коричневый цвет: 1 — средняя экспрессия TGF- β_1 клетками миокарда; 2 — средняя экспрессия TGF- β_1 эндотелиоцитами.

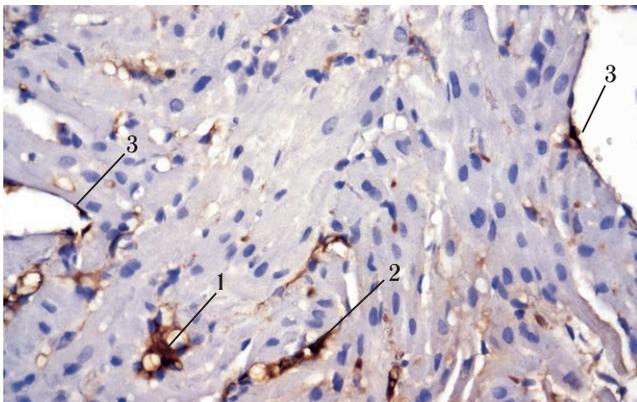


Рис. 3. Миокард правого предсердия крысы после 2 недель введения прозерина при моделировании ХХС, ув. $\times 400$, ИГХ-реакция. Клетки, экспрессирующие TGF- β_1 , окрашены DAB в коричневый цвет: 1 — средняя экспрессия TGF- β_1 клетками миокарда; 2 — сильная экспрессия TGF- β_1 клетками миокарда; 3 — средняя экспрессия TGF- β_1 эндотелиоцитами.

При ХХС наблюдалась только тенденция к увеличению экспрессии TGF- β_1 в ПП по сравнению с ПЖ (ИЭ клетками с сильной и средней экспрессией TGF- β_1 составил 41,7 кл/мм², а в ПЖ — 20,5 кл/мм²; $\chi^2=3,545$; $\rho=0,06$). То есть, наибольшая экспрессия TGF- β_1 наблюдалась при хроническом

АС в правом предсердии. ИА эндотелиоцитов был примерно одинаков во всех отделах сердца и составлял почти 50%, за исключением ПП при ХХС.

На рис. 2–5 представлены морфологические препараты миокарда левого и правого предсердий с позитивными клетками, экспрессирующими TGF- β_1 .

Анатомическая функциональная связь предсердий и желудочков предполагает влияние морфофункциональных особенностей желудочков на морфофункциональное состояние предсердий. В то же время стенка предсердий отличается от строения стенки желудочков [1]. Это проявляется в тонкостенности

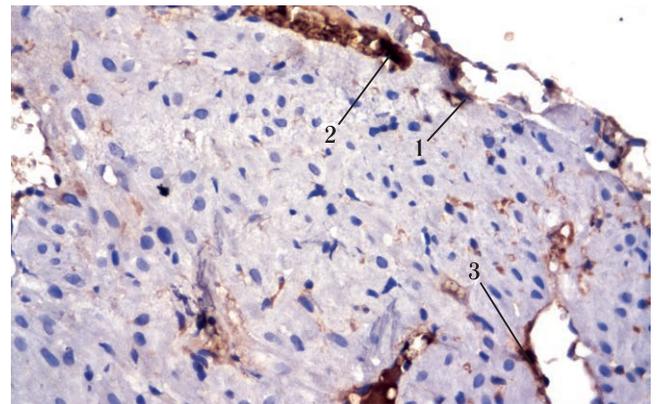


Рис. 4. Миокард левого предсердия крысы после 2 недель введения адреналина при моделировании ХАС, ув. $\times 400$, ИГХ-реакция. Клетки, экспрессирующие TGF- β_1 , окрашены DAB в коричневый цвет: 1 — средняя экспрессия TGF- β_1 клетками миокарда; 2 — сильная экспрессия TGF- β_1 клетками миокарда; 3 — средняя экспрессия TGF- β_1 эндотелиоцитами.

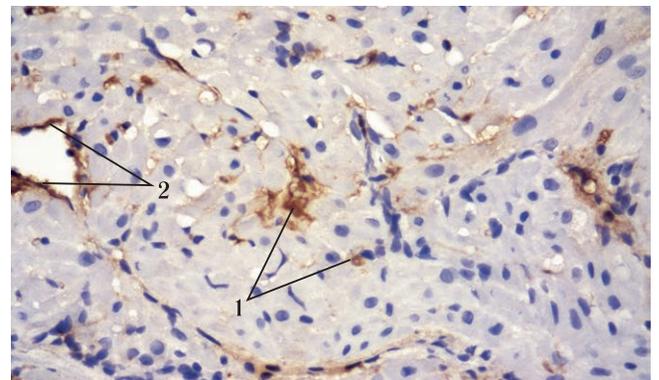


Рис. 5. Миокард левого предсердия крысы после 2 недель введения прозерина при моделировании ХХС, ув. $\times 400$, ИГХ-реакция. Клетки, экспрессирующие TGF- β_1 , окрашены DAB в коричневый цвет: 1 — средняя экспрессия TGF- β_1 клетками миокарда; 2 — средняя экспрессия TGF- β_1 эндотелиоцитами.

предсердий, обусловленной малым содержанием мышечной ткани, наличием в предсердиях участков, лишенных мышечных волокон, что особенно характерно для правого предсердия.

Заключение. Результаты исследования показали, что по всем показателям (ИЭ клеток с сильной

и средней экспрессии TGF- β_1 , ИЭ эндотелиоцитов с сильной и средней экспрессией TGF- β_1 , ИА эндотелиоцитов) экспрессия TGF- β_1 в ЛЖ и в ПЖ при обоих вариантах стресса была примерно одинакова. В правых отделах сердца при обоих вариантах хронического стресса экспрессия TGF- β_1 клетками была значительно больше в ПП по сравнению с ПЖ. ИЭ клеток с сильной и средней экспрессией при ХАС в ПП составил 52,3 кл/мм², а в ПЖ — всего 18,7 кл/мм² ($\chi^2=8,006$; $p=0,005$), тогда как при ХХС отмечена лишь тенденция к увеличению ИЭ клетками с сильной и средней экспрессией TGF- β_1 в ПП (41,7 кл/мм²) по сравнению с ПЖ 20,5 кл/мм² ($\chi^2=3,550$; $p=0,060$).

Полученные результаты исследования позволяют говорить о «мозаичности» выработки TGF- β_1 при

обоих вариантах хронического стресса. Больше всего TGF- β_1 вырабатывается в ПП, причем в 2,9 раза больше, чем в ПЖ при ХАС ($p<0,05$) и в 2 раза вырабатывается в ПП больше, чем в ПЖ при ХХС ($p=0,06$).

Не исключено, что увеличение экспрессии TGF- β_1 в предсердиях способствует развитию локального фиброза в миокарде предсердий.

Полученные экспериментальные данные дают представление о возможно новых механизмах в патогенезе развития фибрилляции предсердий. В практической кардиологии фибрилляция предсердий является одним из самых распространенных нарушений ритма и характерной особенностью больных с фибрилляцией предсердий является развитие интерстициального фиброза предсердий [5–8].

Литература

1. Biernacka A., Frangogiannis N. G. Aging and Cardiac Fibrosis // *Aging and Disease*. — 2011. — Vol. 2, № 2. — P. 158–173
2. Yoshimatsu Y., Watabe T. Roles of TGF- β signals in endothelial-mesenchymal transition during cardiac fibrosis // *International journal of inflammation*. — 2011. — Vol. 2011.
3. Ramos-Mondragón R., Galindo C. A., Avila G. Role of TGF- β on cardiac structural and electrical remodeling // *Vascular health and risk management*. — 2008. — Vol. 4, № 6. — P. 1289.
4. Беляя Н. В. Механизмы ремоделирования миокарда при артериальной гипертензии // *Международный медицинский журнал*. — 2006. — № 2. — С. 15–18.
5. Драпкина О. М., Емельянов А. В. Фиброз и фибрилляция предсердий — механизмы и лечение // *Артериальная гипертензия*. — 2013. — Т. 19, № 6. — С. 487–494.
6. Митрофанова Л. Б., Лебедев Д. С., Антонова И. В., Платонов П. Г. Сравнительное морфометрическое исследование различных отделов предсердий при их пароксизмальной и персистирующей фибрилляции // *Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова*. — 2010. — № 5. — С. 3.
7. Целуйко В. Й., Дмитриев С. Ю. Роль интерстициального фиброза как предиктора возникновения фибрилляции предсердий // *Медицина неотложных состояний*. — 2007. — № 3 (10). — С. 124–126.
8. Диагностика и лечение фибрилляции предсердий. Рекомендации РКО, ВНОА и АССХ // *Российский кардиологический журнал*. — 2014. — № 4 (приложение 3). — С. 10.

Поступила в редакцию: 15.05.2015 г.

Контакт: Жмайлова Светлана Викторовна, zhmailova.svetlana@yandex.ru

Сведения об авторах:

Вебер Виктор Робертович — член-корреспондент РАН, д-р мед. наук, проф., ректор Новгородского государственного университета, служебный адрес 173000 Великий Новгород, ул. Санкт-Петербургская д.41, тел.: +7 8162 62–72–44;

Лобзин Юрий Владимирович — академик РАН, д-р мед. наук, профессор, директор ФГБУ «НИИ детских инфекций ФМБА», служебный адрес: Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9;

Рубанова Марина Павловна — д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой дополнительного профессионального образования и поликлинической терапии Новгородского государственного университета, служебный адрес 173000 Великий Новгород, ул. Санкт-Петербургская д. 41, тел.: +7 8162 671485;

Жмайлова Светлана Викторовна — д-р мед. наук, проф. кафедры дополнительного профессионального образования и поликлинической терапии Новгородского государственного университета, служебный адрес 173000 Великий Новгород, ул. Санкт-Петербургская д. 41, тел.: +7 8162 671485, zhmailova.svetlana@yandex.ru;

Губская Прасковья Михайловна — канд. мед. наук, докторант Новгородского государственного университета;

Карев Владимир Евгеньевич — канд. мед. наук, и. о. руководителя отдела тканевых и патоморфологических методов исследования ФГБУ «НИИ детских инфекций ФМБА», служебный адрес 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9, тел.: (812) 234–60–04, vadimkarev@yandex.ru;

Румянцев Егор Евгеньевич — аспирант Новгородского государственного университета, служебный адрес 173000 Великий Новгород, ул. Санкт-Петербургская, д. 41.

УДК 612.821.6:615.214.2:615.357

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИСТРИАРНЫХ ВВЕДЕНИЙ АЦЕТАТА ЦИНКА НА НОРМАЛЬНОЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКОЕ ДВИГАТЕЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС

А. Ф. Якимовский, С. Ю. Крыжановская

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Россия
Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

THE EFFECT OF INTRASTRIATAL ZINC ACETATE INJECTIONS ON NORMAL AND PATHOLOGICAL LOCOMOTOR BEHAVIOR IN RATS

A. F. Yakimovskiy, S. Yu. Kryzhanovskaya

I. P. Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg, Russia;
I. P. Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Science, St. Petersburg, Russia

© А. Ф. Якимовский, С. Ю. Крыжановская, 2015 г.

Исследовали спонтанную двигательную активность и условно-рефлекторное избегательное поведение в «челночной камере» у крыс на фоне многократного введения в ростральный неостриатум ацетата цинка (1 мкг). Цинк вводился ежедневно в течение двух недель, отдельно и с антагонистом ГАМК-А рецепторов пикротоксином (2 мкг). Существенно не влияя на параметры условного рефлекса избегания, ацетат цинка вызывал у крыс усиление спонтанной двигательной активности и поисковую стереотипию. Введенный вместе с пикротоксином, в первые дни цикла микроинъекций он ослаблял гиперкинетическое действие пикротоксина, но усиливал его негативное влияние на реализацию условного рефлекса избегания. В последующие дни влияние ацетата цинка изменилось: на его фоне у крыс увеличилась воспроизводимость пикротоксинового гиперкинеза, а реализация условнорефлекторного навыка полностью восстановилась. Предполагается, что цинк, обладает сложным и множественным влиянием на ионный гомеостазис, на синаптический и нейрональный субстрат мозга. В зависимости от концентрации, длительности и режима введения он способен затрагивать разные системы мозга, вызывая этим различные, часто — разнонаправленные изменения в поведении.

Ключевые слова: неостриатум, пикротоксин, ацетат цинка, двигательное поведение, условный рефлекс избегания, хорео-миоклонический гиперкинез.

Free locomotor activity and conditional avoidance behavior in a «shuttle box» upon multiple injections of zinc acetate (1 mg) into rats rostral neostriatum were studied. Zinc acetate was injected daily for two weeks separately or in combination with the GABA-A receptor antagonist picrotoxin (2 mg). Zinc acetate did not significantly influence conditional avoidance reflexes, but increased the free locomotor activity and motor stereotypy in the rats. Injected with picrotoxin, it lowered the hyperkinetic effect of picrotoxin within the first few days of microinjections, but potentiated its negative effect on conditional avoidance reflexes. In the subsequent days, the effects of zinc acetate changed: the reproducibility of the hyperkinetic effects of picrotoxin increased, and the conditional avoidance behavior recovered. The results suggest that zinc produces combined and multiple effects on ion homeostasis and brain neurons and synapses. Depending on the dosage, duration and regimen of injections, zinc can affect various brain systems and produce different, often contradictory, behavioral changes.

Key words: neostriatum, picrotoxin, acetic zinc, locomotor activity, conditional avoidance reflex, choreic-myoclonic hyperkinesia.

Введение. Экспериментальная неврология (моделирование на животных неврологических симптомов и синдромов) как метод познания актуальна и для физиологии, и для патологии мозга [1]. Дисфункция стриатума (хвостатое ядро, скорлупа, бледный шар) лежит в основе патогенеза таких заболеваний, как болезнь Паркинсона, хорея Гентингтона, атетоз и другие гиперкинезы [2, 3]. В лечении болезни Паркинсона достигнуты существенные успехи,

и основаны они на данных современной нейрофизиологии и нейропатологии мозга. В отношении гиперкинезов, в частности хореи Гентингтона, ситуация иная. Известна этиология заболевания (наследственная, молекулярно-генетическая), описаны основные этапы патогенеза [4]. В основе хореи лежит прогрессирующая дегенерация ГАМК-ергических среднешипиловых нейронов хвостатого ядра и скорлупы, приводящая к дисбалансу тормозных и возбуждающих про-

цессов, к диспропорции эфферентных (прямых, непрямых) посылок из неостриатума в подчиненные структуры и в итоге — к дезорганизации двигательной и когнитивной сфер человека [3, 5]. Несмотря на достигнутые успехи, эффективного лечения хорей Гентингтона до сих пор не разработано.

Одним из способов решения этой проблемы и является создание на лабораторных животных модели дисфункции стриатума гиперкинетического типа. Благодаря разработке метода многократных микроинъекций фармакологических веществ в ткань мозга без смены микроинъектора [1, 5], была получена модель пикротоксинового хорео-миоклонического гиперкинеза, аналогичного таковому при заболевании у человека [6]. Была продемонстрирована эффективность ряда соединений, влияющих на глутаматергическую систему неостриатума, и в особенности блокаторов кальциевых каналов — верапамила, ионов магния и цинка [1, 5]. Цинк, по-видимому, не только обладает способностью блокировать кальциевые каналы, но и оказывает более многогранное влияние на состояние синапсов [7]. В данной работе, которая является частью комплексных исследований, изучается влияние ацетата цинка, введенного в неостриатум крыс на параметры нормального (свободного и условно-рефлекторного избежательного) и патологического (пикротоксиновый гиперкинез) двигательного поведения.

Материалы и методы исследования. Работа с животными базировалась на принципах Хельсинской Декларации в редакции 2002 г. и в соответствии с «Руководством по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова», 2002 г. В эксперименте использовано 26 белых крыс-самцов линии Вистар массой 200–250 г с выработанным условным рефлексом активного избегания (УРАИ) в «челночной камере», которая представляет собой ящик из хлорвинила и прозрачного оргстекла (передняя стенка) размерами 650×550×300 мм, разделенный на освещенную (левую) и затемненную (правую) половины. Камера имеет проволочный пол (через который подается электрический ток силой 1 мА): крысы обучались покидать затемненную половину не позднее 10 с действия условного раздражителя (тон 7000 Гц). В течение 3 дней крыс адаптировали к «челночной камере» и раздражителям, после чего приступали к выработке условного рефлекса активного избегания темной половины камеры. У крыс добивались выработки навыка не ниже 80% уровня правильных ответов (отношение в процентах правильно выполненных реакций к общему числу предъявляемых условных раздражителей). При последующем ежедневном

тестировании за опыт подавали 10 сочетаний условного и безусловного раздражителей с промежутком 30–40 с. В установке «открытое поле» (ящик с квадратным дном, расчерченным на 16 квадратов 165×165 мм и стенками высотой 25 мм) оценивали спонтанную двигательную активность (СДА): пересечение границ квадратов пола и исследовательское поведение — по количеству стоек на задних лапах. В течение 3 дней крыс помещали на 5 мин в «открытое поле» для адаптации к новым условиям и угашения реакции на новизну, после чего проводили контрольное тестирование; время тестирования — 3 минуты.

Каждому из животных в область рострального отдела неостриатума под нембуталовым наркозом (40–60 мг/кг) по стереотаксическим координатам (ростральнее брегмы на 1,0–1,5 мм, латеральнее средней линии черепа на 2,0–2,5 мм и вентральнее его поверхности на 6,0–6,5 мм) вживляли гибкие микроинъекторы, заполненные раствором вещества на 15–20 инъекций. Способ введения описан ранее [1, 5, 6]. Животные были разделены на контрольную и две экспериментальные группы. 11 животным контрольной группы вводили стерильный апирогенный физиологический раствор (0,9% раствор натрия хлорида), объем одной микроинъекции — 1 мкл. У крыс первой экспериментальной группы (8 крыс) канюли содержали 1,0 мкг ацетата цинка в 1 мкл раствора, у второй (7 крыс) — 1,0 мкг ацетата цинка в 1 мкл раствора и 2,0 мкг пикротоксина. Объем одной микроинъекции у них был таким же, как и у крыс контрольной группы, 1 мкл. Введения начинали через 2–3 дня после операции и производили ежедневно в течение 14 дней. Тестирование поведения осуществляли с промежутком 1–3 дня. Опыты начинали через 15 минут после очередной микроинъекции: вначале животных помещали на 3 мин в «открытое поле», а затем проводили тестирование в «челночной камере», по итогам которого оценивали успешность реализации рефлекса (отношение своевременных переходов на светлую половину камеры к общему числу подаваемых условных раздражителей, в процентах) и его латентный период (время в секундах от момента подачи условного раздражителя до исполнения навыка).

После прекращения цикла микроинъекций эксперименты продолжали еще в течение двух недель — исследовали возможную динамику восстановления нарушенных двигательных функций. По окончании опытов проводили морфологический контроль локализации канюль. У всех животных кончики канюль располагались в области неостриатума (животные с иной локализацией канюль выбраковывались и полученные на них данные в публикации не представлены). При статистическом анализе рассчитывались средние ариф-

метические по группе животных, стандартные ошибки и стандартные отклонения. Показатели в очередной день введения препарата сравнивали с показателями этой группы до начала микроинъекций и с показателями в соответствующий день экспериментов у крыс контрольной группы. Данные оценивались с использованием непараметрических методов статистики (по Манну–Уитни, Вилкоксоу, Фридману, дисперсионный анализ Фишера). По *t*-критерию Стьюдента различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У крыс с введением изотонического раствора натрия хлорида существенных изменений в регистрируемых параметрах поведения, в частности в реализации УРАИ (рис. 1, *a*), зафиксировано не было.

У животных с введением в неостриатум ацетата цинка реализация УРАИ в первые дни микроинъекций снижалась (рис. 1, *b*), но статистически достоверных изменений не было. Это связано, прежде всего, с выраженной внутригрупповой вариабельностью: в опытный день у 2–3 крыс группы реализация УРАИ могла быть безошибочной, а у 2–3 других — с большим числом ошибок. СДА возрастала, хотя ни один из способов статистической обработки достоверных сдвигов не выявил. Есть основание считать увеличение СДА частью возникающего у этих крыс под влиянием ацетата цинка синдрома двигательной гиперактивности. У двух крыс этой группы в период с 4-го по 11-й день микроинъекций, в течение примерно часа после очередного введения, наблюдалась отчетливая поисковая стереотипия в форме вынюхивания стен и пола «открытого поля», «челночной камеры» и клетки, где содержалось животное между опытами. У одной из них в последний, 14-й день введения ацетата цинка зарегистрирован эпизод отчетливого гиперкинеза (неконтролируемые стереотипные движения различных частей тела), совпадающего с таковым при микроинъекциях в неостриатум пикротоксина. Эффекты внутривариантного введения этого блокатора ГАМК-А рецепторов неоднократно описаны в наших предыдущих публикациях [5, 6] и здесь будут приведены для сравнения. Реализация УРАИ под влиянием пикротоксина у крыс нарушается (рис. 1, *в*), СДА достоверно увеличивается. Гиперкинез начинается с мелких подергиваний головы или лапы, их частота и амплитуда увеличивается, движения становятся целостными и у примерно половины животных они охватывают все тело (генерализация гиперкинеза). Латентный период хореомиоклонического гиперкинеза (время от микроинъекции пикротоксина до первых проявлений гиперкинеза) составляет в среднем по группе $9,6 \pm 4,2$ мин, воспроизводимость гиперкинеза (процент животных, у которых наблюда-

лось это явление в данный экспериментальный день от числа животных в группе) достигает в первый день микроинъекций 100% (рис. 2, *a*). Средняя продолжительность гиперкинеза в первый день эксперимента составляла $88,4 \pm 27,7$ мин.

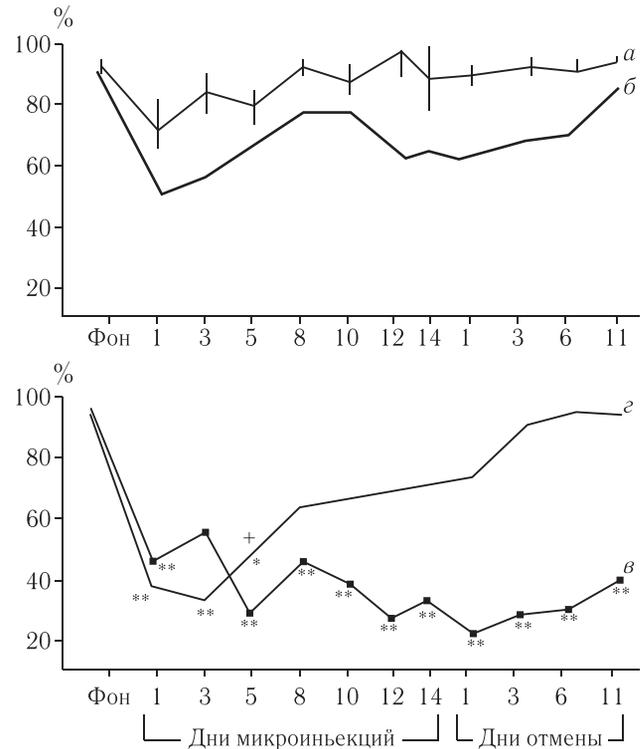


Рис. 1. Динамика показателя точности реализации условного рефлекса активного избегания у крыс в челночной камере (средние значения по группе животных) на фоне хронического введения в ростральнй неостриатум 1 мкл изотонического раствора натрия хлорида (*a*), 1 мкг ацетата цинка (*b*), 2 мкг пикротоксина (*в*) и 2 мкг пикротоксина совместно с 1 мкг ацетата цинка (*г*).

По оси абсцисс — дни опытов (фон до начала микроинъекций, период введения препарата и период после отмены); по оси ординат — правильные ответы (от предъявленных за опыт), %.

* Случаи достоверных отличий показателя в данный день опыта с показателями у крыс с введением изотонического раствора натрия хлорида (сравнение двух рядов по Стьюденту), $p = 0,01-0,05$;

** $p < 0,01$; + — случаи достоверных отличий показателя в данный день опыта по сравнению с показателями у крыс с введением одного пикротоксина, $p = 0,01-0,05$.

Изменения в поведении у крыс второй экспериментальной группы с одновременным введением в неостриатум пикротоксина и ацетата цинка оказались более сложными и неоднозначными. Если исходить из показателей реализации условно-рефлекторного навыка, то на первой неделе опытов они были ниже, чем у контрольной группы, а на 3-й день микроинъекций точность реализации УРАИ была даже хуже, чем у крыс с введением одного пикротоксина (рис. 1, *г*). В последующие дни навык восстанавливался, а после отмены микроинъекций он совпадал с таковым у контрольных животных. Параметры

гиперкинеза — латентный период и длительность (в первый день опытов), совпадали с таковыми у крыс с введением одного пикротоксина — $9,8 \pm 2,9$ мин и $72,8 \pm 24,0$ мин соответственно. Воспроизводимость гиперкинеза (рис. 2, б) в первый день была ниже, чем у крыс с одним пикротоксином (70%), и, как и у них, уменьшилась к 8-му дню до 29%. Но в последующие дни увеличилась

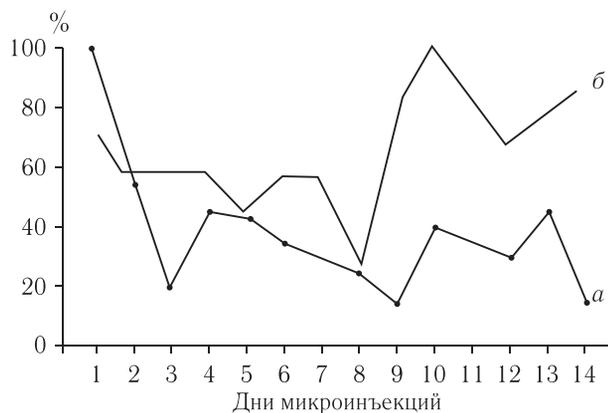


Рис. 2. Динамика воспроизводимости пикротокинового гиперкинеза у крыс с микроинъекциями в ростральный неостриатум 2 мкг пикротоксина (а) или 2 мкг пикротоксина совместно с 1 мкг ацетата цинка (б).

По оси абсцисс — дни микроинъекций; по оси ординат — число животных, у которых наблюдался гиперкинез в данный экспериментальный день от числа животных в группе, %.

до 86% (т. е. наблюдалась у 6 из 7 крыс группы), и даже достигала 100%! В то же время приведенные факты не в полной мере отражают сущность происходящего. Гиперкинез, хоть и встречался чаще, реализовался в симптоматически «усеченном» виде — сводился к низкоамплитудным подергиваниям одной лапки или головы; генерализация гиперкинеза (вовлечение в гиперкинез одновременно двух лап и головы, всего туловища — аналог генерализованной формы хорей Гентингтона), как правило, была кратковременной — это были всего несколько приступов по 10–15 с (у крыс с введением одного пикротоксина генерализация длилась десятки минут, то усиливаясь, то стихая). Следует напомнить, что ацетат цинка, введенный в неостриатум и сам вызывал у крыс двигательную гиперактивность с элементами стереотипии, а у одной из них индуцировал гиперкинез. По данным наших предыдущих исследований, введение в неостриатум другого соединения цинка — хлорида, напротив — снижает СДА и двигательных нарушений не вызывает [8]. В связи с этим невозможно исключить нейробиологическое влияние ацетатного остатка, но это предположение требует дополнительного исследования.

Литературные данные указывают на то, что нейробиологические свойства цинка многогранны и в

силу уже этих обстоятельств ожидать однозначных результатов в наших экспериментах не следует. Цинк не только по-разному влиял на различные формы двигательного поведения крыс, но на этапах его двухнедельного цикла микроинъекций менял знак своего воздействия на поведение: в первые дни усугублялось влияние пикротоксина на УРАИ, на второй неделе действие было противоположным с быстрой компенсацией нарушения, но усиливалось гиперкиногенное влияние пикротоксина — возрастала воспроизводимость гиперкинеза. Возможно, это связано с прямым влиянием цинка на ГАМК-ергическую систему неостриатума. Принципиально такая возможность доказана [9], причем чувствительность к цинку и эффективность его влияния на хлорные ионные каналы ГАМК-А рецептора отличаются в зависимости от набора субъединиц. В свою очередь, ГАМК-ергические нейроны стриатума также неоднородны и состоят из двух функциональных пулов: первый включает эфферентные нейроны, аксоны которых выходят за пределы структуры (создают т. н. «прямой» и «непрямой» эфферентный пути) и дают коллатерали в стриатуме; второй представлен двумя типами интернейронов с «тонической» и «фазической» активностью [10, 11]. Пикротоксин, блокируя ГАМК-А рецепторы неостриатума, вызывает дисбаланс эфферентов: происходит растормаживание внутреннего членика бледного шара, но усиливается ингибирующее действие на наружный членик, который в норме оказывает обратное тормозящее действие на неостриатум. Нарушаются физиологические механизмы конвергенции на нейроны стриатума глутаматергических входов из неокортекса и дофаминергических — из черной субстанции среднего мозга. Более того, модулирующее влияние дофамина на ГАМК-А рецепторы нейронов стриатума крыс нарушается именно пикротоксином (но не другими ГАМК-А блокаторами). Как показали недавно проведенные эксперименты с регистрацией электрической активности среднешипиковых нейронов, в этой ситуации цинк влияет не на все, а только на некоторые типы хлорных каналов с определенным набором субъединиц [12]. Можно предположить, что на этапах двухнедельного цикла микроинъекций ацетат цинка затрагивал разный, чувствительный к его присутствию субстрат стриатума и, соответственно, по-разному влиял на условнорефлекторную активность и параметры двигательной дисфункции в виде пикротокинового гиперкинеза.

Очевидно и то, что чувствительность цинк-воспринимающих структур различна и зависит от концентрации ионов этого металла. Ранее, в аналогичных экспе-

риментах, нами было показано [8], что хлорид цинка, введенный в неостриатум вместе пикротоксином уменьшал его негативное влияние на двигательное поведение (и на условно-рефлекторное, и на гиперкинез), но эффект зависел от дозы (концентрации) микроэлемента, причем наиболее эффективной была наименьшая доза — 100 нг. Зависимость от дозы (правда, обратная по своему характеру) зарегистрирована и в экспериментах с питьевой нагрузкой ацетатом цинка [13]. В цитируемых исследованиях также зарегистрированы различия во влиянии цинка на поведение крыс в начале и конце хронического эксперимента, что подчеркивает обнаруженную закономерность.

Выводы.

1. Ацетат цинка, многократно введенный двусторонне в ростральные отделы неостриатума крыс в дозе 2 мг индуцирует двигательную гиперактивность и поисковую стереотию.

2. Ацетат цинка способствует восстановлению нарушенного пикротоксином условно-рефлекторного избегательного навыка у крыс в «челночной камере» и снижает проявления гиперкинеза, но увеличивает его воспроизводимость по группе животных.

3. Влияния ацетата цинка на регистрируемые параметры двигательного поведения крыс различны на этапах цикла его микроинъекций и после их окончания.

Литература

1. Якимовский А. Ф. Нейрофармакологическая модель дисфункции стриатума: итоги и перспективы // Обзорение психиатрии и медицинской психологии. — 2014. — Приложение. — С. 206–207.
2. Blandini F., Nappi G., Tassorelli C., Martignoni E. Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease // Progress in Neurobiol. — 2000. — Vol. 62, № 11. — P. 63–88.
3. Thieben M. J., Duggins A. J., Good C. D. et al. The destruction of structural neurology in pre-clinical Huntington's disease // Brain. — 2002. — Vol. 125, № 8. — P. 1815–1828.
4. Коржова В. В., Артамонов Д. Н., Власова О. Л., Беспрозванный И. Б. Болезнь Хантингтона: молекулярно-клеточные основы патологии // Журн. высшей нервной деятельности. — 2014. — Т. 64, № 4. — С. 350–375.
5. Якимовский А. Ф., Варшавская В. М. Этиопатогенез хорей Гентингтона: итоги и перспективы экспериментального моделирования // Мед. акад. журнал. — 2006. — Т. 6, № 2. — С. 28–40.
6. Якимовский А. Ф. Миоклонический гиперкинез, вызываемый повторным введением в неостриатум крыс пикротоксина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1993. — Т. 114, № 1. — С. 7–9.
7. Smart T. G., Hosie A. M., Miller P. S. Zn²⁺ ions: modulators of excitatory and inhibitory synaptic activity // Neuroscientist. — 2004. — Vol. 10, № 5. — P. 432–442.
8. Якимовский А. Ф., Степанов И. И. Влияние хлорида цинка на пикротоксиновый гиперкинез зависит от его концентрации в растворе, инъекцируемом в неостриатум крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2010. — Т. 150, № 12. — С. 604–606.
9. Horenstain J., Akabas M. H. Location of a high affinity Zn²⁺ binding site in the channel of $\alpha 1\beta 1 \gamma$ -aminobutyric acid — a receptors // Molecular Pharmacology. — 1998. — Vol. 53, № 5. — P. 870–877.
10. Kubota Y., Kawaguchi Y. Dependence of GABAergic synaptic areas on the interneuron type and target size // J. Neurosci. — 2000. — Vol. 20, № 1. — P. 375–386.
11. Yelnik J. Functional anatomy of the basal ganglia // Mov. Disord. — 2002. — Vol. 3, Suppl. 3. — S. 15–21.
12. Hoerbelt P., Lindsley T. A., Fleck M. W. Dopamine directly modulates GABA-A receptors // J. of Neurosci. — 2015. — Vol. 35, № 8. — P. 3525–3536.
13. Якимовский А. Ф. Способность цинка восстанавливать условный рефлекс избегания, нарушенный у крыс внутристриарным введением пикротоксина // Микроэлементы в медицине. — 2014. — Т. 15, № 3. — С. 27–32.

Поступила в редакцию: 15.05.2015 г.

Контакт: Якимовский Андрей Федорович. jakim2010@gmail.com

Сведения об авторах:

Якимовский Андрей Федорович — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии, заведующий лабораторией физиологии и патологии двигательного поведения Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова; ст. научный сотрудник лаборатории физиологии высшей нервной деятельности Института физиологии им. И. П. Павлова РАН. 197089, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, кафедра нормальной физиологии. Тел: (812) 338–66–04; e-mail: jakim2010@gmail.com;

Крыжановская Светлана Юрьевна — канд. мед. наук, доцент кафедры нормальной физиологии, мл. научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии двигательного поведения Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова. 197089, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, кафедра нормальной физиологии. Тел: (812) 338–66–04.

УДК 616.596-002:616-08

СОСТОЯНИЕ ОКСИДАТИВНОГО СТАТУСА КРОВИ И ТКАНЕЙ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПОРАЖЕНИЯХ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА У КРЫС ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЗУБНЫХ ПАСТ И ИХ ОТДЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ

^{1,2}П. Д. Шабанов, ^{1,3}Е. В. Мокренко

¹Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия
²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
³Иркутский государственный медицинский университет, г. Иркутск, Россия

THE OXIDATIVE STATUS OF BLOOD AND TISSUES IN INFLAMMATORY AND DEGENERATIVE DAMAGE TO THE SMOOTH PARODENTIUM TISSUE IN RATS AFTER USING OF TOOTH PASTES AND THEIR SEPARATE COMPONENTS

^{1,2}P. D. Shabanov, ^{1,3}Ye. V. Mokrenko

¹S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia
²St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia
³Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

© П. Д. Шабанов, Е. В. Мокренко, 2015 г.

Предложена модель воспалительно-дегенеративного поражения тканей пародонта введением 2% водного раствора формальдегида (0,3 мл) в мягкие ткани пародонта крысам. Оценивали оксидативный статус животных, включая систему перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, которая оказалась чувствительным показателем воспалительного процесса. Показатели перекисного окисления липидов (содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов) через 7 дней от начала воспаления были в 2–3 раза выше в сыворотке крови и тканях пародонта. Еще более чувствительной была система антиоксидантной защиты (содержание восстановленного глутатиона и активность супероксиддисмутазы), особенно в тканях. Уровень восстановленного глутатиона в сыворотке крови снижался с $2,02 \pm 0,09$ до $0,88 \pm 0,21$ мкмоль/мл, а активность супероксиддисмутазы сыворотки — с $0,78 \pm 0,10$ до $0,28 \pm 0,04$ А/мг белка, т. е. исследованные показатели снижались в 2,5–3 раза. Аналогичную закономерность наблюдали и в мягких тканях пародонта. Содержание восстановленного глутатиона при этом снижалось в 2,1 раза, а активность супероксиддисмутазы — в 7 раз. Зубные пасты «Лесмин-дент» > «Кламин-дент» > «Жемчуг» (расположены в порядке убывания активности) устраняли или значительно уменьшали проявления воспалительно-дегенеративного поражения тканей пародонта у крыс, оцененные по состоянию перекисного окисления липидов и систем антиоксидантной защиты. Антигипоксанты мидалон > элам-А > элам-М (расположены в порядке убывания активности) при системном применении (7 дней) более существенно в сравнении с зубными пастами уменьшали проявления воспалительно-дегенеративного поражения тканей пародонта у крыс. Сделан вывод, что с помощью данной модели можно адекватно оценивать лечебно-профилактическое действие зубных паст и лекарственных препаратов, применяемых в стоматологии. **Ключевые слова:** пародонт, воспаление, оксидативный стресс, перекисное окисление липидов, антиоксидантные системы, зубные пасты, антигипоксанты, мидалон.

A rat model of inflammatory and degenerative damage to the smooth parodontium tissue, which is produced by administering 2% aqueous formaldehyde into the smooth parodontium, is described. The oxidative status of rats, including lipid peroxidation and antioxidant system parameters, was assessed because of its high sensitivity to inflammation. Malondialdehyde and diene conjugates levels were 2- to 3-fold higher in blood serum and parodontium tissue 7 days after the onset of inflammation. Reduced glutathione level and superoxide dismutase activity were somewhat more sensitive than the parameters of lipid peroxidation: blood serum reduced glutathione decreased from $2,02 \pm 0,09$ to $0,88 \pm 0,21$ $\mu\text{M}/\text{mL}$, and superoxide dismutase activity decreased from $0,78 \pm 0,10$ to $0,28 \pm 0,04$ unit/mg protein, that is, decreased 2,5 to 3 times. Similar changes were observed in the smooth parodontium: reduced glutathione decreased 2,1-fold, and superoxide dismutase activity decreased 7-fold. The toothpastes Lesmin-Dent, Clamin-Dent and Zhemchug (in the order of descending activity) attenuated or abolished the signs of inflammatory and degenerative damages to the smoothparodontium tissue in rats, as assessed by lipid peroxidation and antioxidant defense parameters. The antihypoxic drugs Midalon, Elam-A, and Elam-M (in the order of descending activity) after 7 days of oral administration attenuated the signs of

inflammatory and degenerative damage to the smooth parodontium more than the toothpastes did. Therefore, the curative and preventive effects of toothpastes and dental drugs may be assessed using the above model of inflammation.

Key words: parodontium, inflammation, oxidative stress, lipid peroxidation, antioxidant systems, tooth pastes, antihypoxants, Midalon.

Введение. Разработка адекватных моделей для оценки действия зубных паст и лекарственных средств, применяемых в современной стоматологии, является своевременной и актуальной проблемой. Особенно важна в этом случае оценка как местных изменений тканей пародонта, так и системных отклонений в функциях организма, на которые, как правило, обращают меньшее внимание [1–3]. Фармакологические агенты, входящие в лечебные пасты, действуют, как правило, местно, и лишь незначительная их часть всасывается в кровь, оказывая системное действие. Вместе с тем, возможно введение этих же действующих начал в виде лекарственных средств или биологически активных добавок (БАД) к пище, что может повысить эффективность лечения данной патологии.

Целью исследования была разработка экспериментальной модели воспалительно-дегенеративных нарушений тканей пародонта у грызунов (крыс), ее биохимическая характеристика и оценка действия лечебно-профилактических зубных паст и лекарственных средств, применяемых системно, на процессы воспаления в данной модели.

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на 144 крысах самцах Вистар массой 220–250 г. С целью воспроизведения воспалительно-дегенеративных повреждений мягких тканей пародонта крысам, наркотизированным эфиром, в наружную часть десны на уровне нижних коренных зубов вводили по 0,15 мл с каждой стороны 2% водного раствора формальдегида (общий объем вводимого раствора составил 0,3 мл). Инъекции производили однократно. Контрольные животные получали инъекции 0,9% раствора натрия хлорида (физиологического раствора) в тех же объемах. Уже через сутки на месте введения формалина развивались стойкие обширные воспалительно-дегенеративные изменения мягких тканей пародонта, которые сохранялись до 2 недель. Помимо измененных тканей пародонта воспаление развивалось и на внутренней части щек, поскольку у крысы щеки небольшие, тонкие, в норме их внутренняя поверхность гладкая, в ней находятся протоки слюнных желез. Внешний облик крысы менялся. Из-за отека мягких тканей щек обычная вытянутая форма морды животного изменялась, щеки раздувались, и животное становилось похожим на хомяка. Такой вид животных сохранялся обычно 3–4 дня,

постепенно отек мягких тканей уменьшался. В отдельных случаях (приблизительно у 10% животных) наблюдали абсцедирование процесса, тогда отечность мягких тканей сохранялась более длительно [1, 4].

Фармакологические средства и биологически активные добавки, использованные в работе. В настоящей работе исследовали метаболические эффекты препаратов элам-А, элам-М, мидалон, зубных паст «Жемчуг», «Лесмин-дент», «Кламин-дент» (табл. 1).

Выбор средств определялся задачами исследования и включал изучение БАД на основе ламинарии и хвой, применяемых в стоматологии. Таблетки элама-А и элама-М размельчали, добавляли эмульгатор твин-80 и вводили через зонд в желудок в дозах 10 мг/кг в объеме, не превышавшем 0,5 мл. В качестве препарата сравнения был выбран мидалон (2-аллилтиобензимидазол), синтезированный и изученный на кафедре фармакологии Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова МО РФ. Мидалон проявляет мощное антигипоксическое и антиоксидантное действие [4] в диапазоне доз от 5 до 50 мг/кг. В наших опытах мидалон в дозе 10 мг/кг вводили в желудок крыс с помощью зонда.

Для лечения воспалительно-дегенеративных поражений мягких тканей пародонта использовали стандартные зубные пасты «Жемчуг» (содержит экстракт хвой), «Лесмин-дент» (содержит натуральный комплекс хвойной пасты и производных хлорофилла) и «Кламин-дент» (содержит минерально-полиеновый комплекс из водорослей ламинарии). Пасты в течение 7 суток (1 раз в день) наносили на внешнюю поверхность десен по 0,28–0,3 см³, начиная со следующего дня после введения формалина в ткани десны.

В тканях пародонта и в крови биохимически определяли содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов (перекисное окисление липидов), а также оценивали активность антиоксидантных систем (содержание восстановленного глутатиона и активность супероксиддисмутазы) [5].

Статистическую обработку проводили с использованием t-критерия Стьюдента и стандартного пакета программ Statistica for Windows 6.0.

Результаты и их обсуждение. Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантных систем у крыс с воспалительно-дегенеративным поражением мягких тканей пародонта. Наблюдение за крыса-

ми с воспалительно-дегенеративным поражением мягких тканей пародонта показало, что в первые сутки после введения формальдегида у них несколько снижа-

дантной защиты, является чувствительным показателем воспалительного процесса в тканях пародонта. Степень сдвигов в показателях перекисного окисле-

Таблица 1

Фармакологические средства и биологически активные добавки, использованные в работе

Средство	Характеристика	Особенности применения
Элам-А	Йодсодержащая БАД на основе водоросли ламинарии, содержащая альгинат кальция	10 мг/кг внутрь в течение 7 суток 1 раз в сутки
Элам-М	Йодсодержащая БАД на основе водоросли ламинарии, содержащая комплекс минеральных веществ	10 мг/кг внутрь в течение 7 суток 1 раз в сутки
Мидалон	Мощный антигипоксикант и антиоксидант (препарат сравнения)	10 мг/кг внутрь в течение 7 суток 1 раз в сутки
Зубная паста «Кламин-дент»	Минерально-полиеновый комплекс из водорослей ламинарии	В течение 7 суток, нанося на внешнюю поверхность десен по 0,28–0,3 см ³
Зубная паста «Лесмин-дент»	Натуральный комплекс хвойной пасты и производных хлорофилла	В течение 7 суток, нанося на внешнюю поверхность десен по 0,28–0,3 см ³
Зубная паста «Жемчуг»	Популярная в РФ зубная паста, содержащая экстракт хвои (паста сравнения)	В течение 7 суток, нанося на внешнюю поверхность десен по 0,28–0,3 см ³

ется двигательная активность, они потребляют меньше пищи. Уже на 2-е сутки уровень потребления пищи восстанавливается и по поведению эти животные практически не отличаются от контрольных. В месте введения раствора формальдегида у животных развивается стойкое повреждение мягких тканей. Визуально и морфологически оно может быть описано как воспалительно-дегенеративное поражение наружной части десен и мягких тканей пародонта. При этом в сыворотке крови на 7-е сутки от начала воспаления резко повышается содержание малонового диальдегида (в 2 раза) и диеновых конъюгатов (на 75%). Аналогичная, но даже более выраженная картина наблюдается и в мягких тканях пародонта. Перекисное окисление липидов в тканях резко активируется, содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в тканях увеличивается более чем в 2 раза. Система антиоксидантной защиты организма при воспалительно-дегенеративном поражении мягких тканей пародонта резко снижается. Уровень восстановленного глутатиона в сыворотке крови снижается с $2,02 \pm 0,09$ до $0,88 \pm 0,21$ мкмоль/мл, а активность супероксиддисмутазы сыворотки — с $0,78 \pm 0,10$ до $0,28 \pm 0,04$ А/мг белка, т. е. исследованные показатели снижаются в 2,5–3 раза. Аналогичная закономерность наблюдается и в мягких тканях пародонта. Содержание восстановленного глутатиона при этом снижается в 2,1 раза, а активность супероксиддисмутазы — в 7 раз.

Таким образом, оксидативный статус, включая систему перекисного окисления липидов и антиокси-

ния липидов (содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов) через 7 дней от начала воспаления составляет порядок 2-кратного увеличения как в сыворотке крови, так и в тканях пародонта. Еще более чувствительной является система антиоксидантной защиты (содержание восстановленного глутатиона и активность супероксиддисмутазы), особенно в тканях [4]. Примечательно, что в тканях пародонта при воспалении активность супероксиддисмутазы возрастала в 7 раз, т. е. данный показатель является наиболее чувствительным из всех рассматриваемых в работе.

Лечение зубными пастами воспалительно-дегенеративных поражений мягких тканей пародонта у крыс. Полученные и описанные выше экспериментальные данные послужили основанием для изучения лечебного действия зубных паст. В наше исследование было включено три зубных пасты: «Жемчуг» (паста сравнения, популярная в РФ), «Кламин-дент» (с экстрактом из бурых водорослей ламинарии) и «Лесмин-дент» (с экстрактом из хвои). Рассматривались два принципиальных момента: пригодность предложенной модели для оценки лечебных свойств зубных паст и эффективность лечения на основании состояния процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантных систем (в сыворотке крови и мягких тканях пародонта).

По показателям состояния перекисного окисления липидов в сыворотке крови зубная паста «Жемчуг» не выявила эффективности. «Кламин-дент» и в большей

степени «Лесмин-дент», умеренно снижали повышенные в результате воспаления уровни малонового диальдегида и диеновых конъюгатов (табл. 2). В среднем «Кламин-дент» снижал содержание малонового диальдегида на 28%, «Лесмин-дент» — на 46%, диеновых конъюгатов: «Кламин-дент» — на 23%, «Лесмин-дент» — на 35%. При оценке действия зубных паст на показатели перекисного окисления липидов в мягких тканях пародонта установлено, что все три использованные пасты были эффективны, хотя и не в одинаковой степени (табл. 2).

30–100%. Зубная паста «Жемчуг» при этом была неэффективна.

В мягких тканях пародонта степень повышения систем антиоксидантной защиты была несколько выше, чем при оценке сходных показателей в сыворотке крови. Здесь также максимальную лечебную эффективность проявил «Лесмин-дент», в меньшей степени — «Кламин-дент» и минимальную — «Жемчуг». При этом «Лесмин-дент» на 59% повышал содержание восстановленного глутатиона и на 132% — активность супероксиддисмутазы в тканях

Таблица 2

Влияние лечения зубными пастами на состояние процессов перекисного окисления липидов у крыс с воспалительно-дегенеративными поражениями тканей пародонта

Показатель	Малоновый диальдегид		Диеновые конъюгаты	
	сыворотка крови, нмоль/мл	мягкие ткани пародонта, мкмоль/г	сыворотка крови, мкмоль/мл	мягкие ткани пародонта, мкмоль/г
Контроль (без лечения)	11,78±0,23	39,28±0,12	17,54±0,80	45,77±0,41
«Жемчуг»	10,37±0,21	34,90±0,42*	16,01±0,24	42,07±0,12*
«Кламин-дент»	9,20±0,26*	28,28±0,19**	14,25±0,31*	35,12±1,57*
«Лесмин-дент»	8,07±0,15**	27,01±0,17**	12,99±0,10**	31,96±0,22**

Примечание. Зубные пасты применяли в течение 7 дней. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ по отношению к группе контроля.

Таблица 3

Влияние лечения зубными пастами на состояние антиоксидантной защиты у крыс с воспалительно-дегенеративными поражениями тканей пародонта

Показатель	Восстановленный глутатион		Активность супероксиддисмутазы	
	сыворотка крови, мкмоль/мл	мягкие ткани пародонта, мкмоль/г	сыворотка крови, А/мг белка	мягкие ткани пародонта, А/мг белка
Контроль (без лечения)	0,88±0,21	17,42±0,69	0,28±0,04	0,31±0,03
«Жемчуг»	0,92±0,02	18,72±0,22	0,29±0,03	0,41±0,04*
«Кламин-дент»	1,22±0,07*	25,28±0,12*	0,45±0,03**	0,57±0,01**
«Лесмин-дент»	1,29±0,01**	27,63±0,38**	0,54±0,02***	0,72±0,12***

Примечание. Зубные пасты применяли в течение 7 дней. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ по отношению к группе контроля.

Повышенный при воспалении уровень малонового диальдегида зубные пасты снижали следующим образом: «Жемчуг» — на 13%, «Кламин-дент» — на 39%, «Лесмин-дент» — на 45%; содержание диеновых конъюгатов: «Жемчуг» — на 9%, «Кламин-дент» — на 30%, «Лесмин-дент» — на 43%, соответственно.

Системы антиоксидантной защиты также менялись при воздействии зубных паст. Так, в сыворотке крови «Лесмин-дент» и в меньшей степени «Кламин-дент» повышали сниженные показатели антиоксидантной защиты (табл. 3). Уровни повышения исследуемых показателей колебались в пределах

пародонта, для «Кламин-дента» эти цифры составили 45% и 83%, для «Жемчуга» — 7% и 32% соответственно.

Таким образом, оценивая лечебную эффективность исследованных зубных паст, следует сделать вывод, что наибольшую терапевтическую активность на модели воспалительно-дегенеративного поражения мягких тканей пародонта у крыс продемонстрировал «Лесмин-дент», несколько меньшую — «Кламин-дент» и минимальную в сравнении с приведенными двумя — «Жемчуг».

Системное применение биологически активных добавок для лечения воспалительно-дегенератив-

ных поражений мягких тканей пародонта у крыс. Безусловно, для стоматологии наиболее приемлемым следует назвать использование БАД в виде зубных паст. Вместе с тем, БАД традиционно применяются и как источники биологически активных веществ (то есть как парафармацевтики), и как источники питательных веществ (нутрицевтики). В настоящем разделе исследовано системное применение БАД (введение внутрь) как способ коррекции воспалительно-дегенеративных изменений в тканях пародонта. Эксперименты выполнены на крысах в модельных

для сыворотки крови: мидалон > элам-А > элам-М (препараты расположены в порядке убывающей активности) проявляли лечебное действие при воспалении десен. Безусловно, мидалон оказывал наиболее мощное антиоксидантное действие, показатели перекисного окисления липидов снижались при этом в 2 раза. Порядок снижения малонового диальдегида и диеновых конъюгатов после введения БАД элам-А и элам-М был сходным и составлял приблизительно 50–70%, как и при оценке данных параметров в сыворотке крови.

Таблица 4

Влияние биологически активных добавок и мидалона на состояние процессов перекисного окисления липидов у крыс с воспалительно-дегенеративными поражениями тканей пародонта

Показатель	Малоновый диальдегид		Диеновые конъюгаты	
	сыворотка крови, нмоль/мл	мягкие ткани пародонта, мкмоль/г	сыворотка крови, мкмоль/мл	мягкие ткани пародонта, мкмоль/г
Контроль (без лечения)	11,78±0,23	39,28±0,12	17,54±0,80	45,77±0,41
Элам-А	7,02±0,03*	24,22±0,05*	10,88±0,04**	27,95±0,06**
Элам-М	7,56±0,15*	25,18±0,08*	12,44±0,30*	30,48±0,39**
Мидалон	6,02±0,04***	19,85±0,43***	10,67±0,62**	22,78±0,28***

Примечание. Препараты вводили внутрь в дозе 10 мг/кг в течение 7 дней. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ по отношению к группе контроля.

опытах, когда БАД вводили в течение 7 дней внутрь. Как и в описанном выше эксперименте, оценивали состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантных систем. В качестве БАД выбраны два йодсодержащих препарата — элам-А и элам-М, отличающихся содержанием минеральной составляющей (в элам-А входит альгинат кальция, в элам-М — комплекс минералов). В качестве препарата сравнения использован мидалон, являющийся производным бензимидазола, у которого показана высокая антигипоксическая и антиоксидантная активность.

Введение исследованных препаратов в течение 7 дней внутрь крысам с воспалительно-дегенеративным поражением мягких тканей пародонта показало, что все они эффективно снижают повышенные воспалительным процессом показатели перекисного окисления липидов (табл. 4). По эффективности препараты можно расположить в следующем порядке: мидалон > элам-А > элам-М (препараты расположены в порядке убывающей активности). В среднем препараты снижали содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в сыворотке крови на 50–80%.

При оценке тех же показателей перекисного окисления липидов в мягких тканях пародонта выявлена закономерность, аналогичная описанной нами выше

Система антиоксидантной защиты также повышалась после лечения БАД и препаратом сравнения мидалоном. Закономерность, описанная выше для этих препаратов, сохранялась и в данных опытах, а именно: мидалон > элам-А > элам-М (препараты расположены в порядке убывающей активности). Мидалон на 110%, элам-А на 95%, а элам-М на 86% повышали содержание восстановленного глутатиона в сыворотке крови и на 196%, 185% и 89% соответственно — активность супероксиддисмутазы (табл. 5).

В мягких тканях пародонта все три исследованных препарата сходным образом (на 79–97%) повышали содержание восстановленного глутатиона. В действии на активность супероксиддисмутазы сохранялась описанная выше закономерность: мидалон > элам-А > элам-М (препараты расположены в порядке убывающей активности). При этом различия были значительными. Так, мидалон повышал активность фермента в 6 раз, элам-А — в 3,8 раза, а элам-М — в 3 раза.

Таким образом, системное применение БАД и препарата сравнения мидалона более значимо, чем их местное применение, снижает перекисное окисление липидов и повышает систему антиоксидантной защиты. Антиоксидантное действие препаратов

описывается следующей закономерностью: мидалон > элам-А > элам-М (препараты расположены в порядке убывающей активности). Тем не менее, следует подчеркнуть, что по многим параметрам

нец, локальной точкой приложения лечебно-профилактических паст (в месте воспаления). При системном введении БАД измененный оксидативный статус нормализуется, как правило, быстрее за счет ней-

Таблица 5

Влияние биологически активных добавок и мидалона на состояние антиоксидантной защиты у крыс с воспалительно-дегенеративными поражениями тканей пародонта

Показатель	Восстановленный глутатион		Активность супероксиддисмутазы	
	сыворотка крови, мкмоль/мл	мягкие ткани пародонта, мкмоль/г	сыворотка крови, А/мг белка	мягкие ткани пародонта, А/мг белка
Контроль (без лечения)	0,88±0,21	17,42±0,69	0,28±0,04	0,31±0,03
Элам-А	1,72±0,01**	32,10±0,03**	0,80±0,04**	1,17±0,01***
Элам-М	1,64±0,03**	30,95±0,25*	0,53±0,02*	0,92±0,03**
Мидалон	1,85±0,02***	34,24±0,10**	0,83±0,04**	1,88±0,02***

Примечание. Препараты вводили внутрь в дозе 10 мг/кг в течение 7 дней. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ по отношению к группе контроля.

антиоксидантная активность элама-А не уступает таковой мидалона, который относится к группе высоко эффективных антиоксидантов. Это подчеркивает высокую терапевтическую эффективность исследованных БАД, сопоставимую с классическими препаратами сравнения.

С учетом высокой информативности показателей перекисного окисления липидов и систем антиоксидантной защиты в наших экспериментах было продемонстрировано, что биологически активные вещества, входящие в состав зубных паст, активно воздействуют на воспалительно-дегенеративные поражения пародонта у крыс [2, 6]. При этом выяснилось, что зубные пасты в меньшей степени, чем биологически активные добавки (БАД) на основе ламинарии и хвой, вводимые системно, уменьшают патологические отклонения, возникающие при воспалении мягких тканей пародонта [7]. Среди зубных паст наибольшей активностью обладал «Лесмин-дент», чуть менее активен был «Кламин-дент» и наименьшая активность зарегистрирована у пасты сравнения «Жемчуг». Более выраженное положительное действие системно вводимых БАД на воспалительный процесс связано с особенностями примененной модели воспалительно-дегенеративного поражения мягких тканей пародонта, а именно, длительным и динамичным развитием воспаления, общим изменением оксидативного статуса организма животных, нако-

трализации активных форм кислорода и в крови, и пораженных тканях [5, 6], что клинически представляется более эффективным лечением.

Выводы.

1. Предложенная модель воспалительно-дегенеративного поражения тканей пародонта с оценкой липидной перекисидации и активности антиоксидантных систем у крыс позволяет адекватно оценивать лечебно-профилактическое действие зубных паст и БАД, применяемых в стоматологии.

2. Зубные пасты «Лесмин-дент» > «Кламин-дент» > «Жемчуг» (расположены в порядке убывания активности) устраняют или значительно уменьшают проявления воспалительно-дегенеративного поражения тканей пародонта у крыс, оцененные по состоянию перекисного окисления липидов и систем антиоксидантной защиты.

3. Антигипоксанты мидалон > элам-А > элам-М (вещества расположены в порядке убывания активности) при системном применении существенно уменьшают проявления воспалительно-дегенеративного поражения тканей пародонта у крыс, оцененные по состоянию перекисного окисления липидов и систем антиоксидантной защиты.

4. Системное применение БАД более значительно уменьшает проявления воспалительно-дегенеративного поражения тканей пародонта у крыс, чем местное применение зубных паст, содержащих БАД.

Литература

1. Мокренко Е. В., Шабанов П. Д. Моделирование воспалительно-дегенеративных повреждений тканей пародонта для оценки действия фармакологических средств и БАД // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2013. — Т. 11, № 2. — С. 57–59.

2. Antoniazzi B. F., Pires C. W., Bresolin C. R., Weiss R. N., Praetzel J. R. Antimicrobial activity of different filling pastes for deciduous tooth treatment // Braz. Oral Res.— 2015.— Vol. 29, № 1.— P. 1–6.
3. Carvalho F. G., Brasil V. L., Silva Filho T. J., Carlo H. L., Santos R. L., Lima B. A. Protective effect of calcium nanophosphate and CPP-ACP agents on enamel erosion // Braz. Oral Res.— 2013.— Vol. 27, № 6.— P. 463–470.
4. Мокренко Е. В., Шабанов П. Д. Модель воспалительно-дегенеративных повреждений тканей пародонта для оценки действия фармакологических средств // Обзор. психиатрии и мед. психологии им. В. М. Бехтерева.— 2014.— Прил.— С. 118–119.
5. Шабанов П. Д., Зарубина И. В., Новиков В. Е., Цыган В. Н. Метаболические корректоры гипоксии.— СПб.: Информ-навигатор, 2010.— 916 с.
6. Шабанов П. Д., Зарубина И. В., Мокренко Е. В. Фармакология трекрезана — нового иммуномодулятора и адаптогена // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии.— 2014.— Т. 12, № 2.— С. 12–27.
7. Shabanov P. D., Mokrenko E. V. Immune modulators of natural and synthetical origin in treatment of bronchial, prostatic and gingival inflammation // Obz. klin. farmacol. i lek. ter.— 2014.— Т. 11, Suppl.— С. 59.

Поступила в редакцию: 28.04.2015 г.

Контакт: Шабанов Петр Дмитриевич, pdshabanov@mail.ru

Сведения об авторах:

Шабанов Петр Дмитриевич — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. акад. Лебедева, д. 6, профессор кафедры фундаментальных основ медицины и передовых технологий Санкт-Петербургского государственного университета. Тел.: (921) 900-19-51; e-mail: pdshabanov@mail.ru;
Мокренко Евгений Владимирович — канд. мед. наук, ассистент кафедры терапевтической ортодонтии Иркутского государственного медицинского университета, докторант кафедры фармакологии Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург.

Наши подписные индексы:

Агентство «Роспечать» — **57999**

Объединенный каталог «Пресса России» — **42190**

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.12-008.331.1]:616.36-005

НАРУШЕНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПО ДАННЫМ ПОЛИГЕПАТОГРАФИИ

¹А. Г. Манасян, ¹С. Ю. Ермолов, ²А. В. Шабров, ¹А. Л. Добкес, ¹С. Г. Манасян, ¹С. В. Сердюков

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

MICROCIRCULATORY DISORDERS OF THE LIVER FOUND WITH POLYHEPATOGRAPHY IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE AND HYPERTENSION

¹A. G. Manasyan, ¹S. Yu. Ermolov, ²A. V. Shabrov, ¹A. L. Dobkes, ¹S. G. Manasyan, ¹S. V. Serdyukov

¹North-Western State Medical University named after Mechnikov, St. Petersburg, Russia

²Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2015 г.

В статье представлены результаты обследования трех групп пациентов (n=90): 1-я группа — пациенты со стабильными формами ишемической болезни сердца в сочетании с гипертонической болезнью; 2-я группа — пациенты с гипертонической болезнью II стадии без ИБС; 3-я группа — контрольная, здоровые люди. У всех пациентов оценивали состояние микроциркуляции в области печени методом полигепатографии. Выявлены значительные отличия по локализации затруднений внутрипеченочного кровотока в группах пациентов. Данное обстоятельство можно использовать для осуществления дифференцированного подхода к лечению рассмотренных заболеваний.

Ключевые слова: полигепатография, микроциркуляция печени, ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь.

The article presents the results of a study of three groups of patients (n=90): Group I: patients with stable ischemic heart disease combined with hypertension; Group II — patients with Stage II essential hypertension without ischemic heart disease; Group III — healthy controls people. Microcirculation in the liver was assessed with polyhepatography in all patients. Significant differences between the groups were found in the locations of intrahepatic blood flow disturbances. This finding may be useful in differential treatment of these diseases.

Key words: polyhepatography, liver microcirculation, ischemic heart disease, essential hypertension.

Введение. В сложной и многогранной проблеме ишемической болезни сердца (ИБС) и артериальной гипертензии (АГ) вопросы течения и прогноза заболевания остаются чрезвычайно актуальными. ИБС характеризуется высокой распространенностью, крайне неблагоприятным прогнозом и большими финансовыми затратами [1–4].

В определении Американского Общества по изучению гипертонии (2005) артериальная гипертензия характеризуется как прогрессирующий полиэтиологичный сердечно-сосудистый синдромокомплекс, который приводит к структурным и функциональным изменениям сердечно-сосудистой системы [5].

Лидирующая позиция сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза в структуре

смертности населения России способствует повышенному вниманию к изучению этиологии и патогенеза атеросклероза. Известно, что при появлении артериальной гипертензии атеросклеротический процесс активизируется [6, 7].

До 50% холестерина синтезируется гепатоцитами [8], поэтому оценка функционального состояния печени является актуальной задачей у пациентов с ИБС и ГБ.

Согласно обновленным рекомендациям по лечению АГ Европейского общества кардиологов (ЕОК) от 2013 г., на протяжении последних десятилетий были отмечены положительные изменения в уровне среднего артериального давления (АД) в различных странах, однако стойкой тенденции к уменьшению его значений зафиксировано не было [9].

По мере прогрессирования заболеваний повреждаются сердце, почки, головной мозг, сосуды и другие органы-мишени [10–14]. Большую роль в генезе поражения органов мишеней, в том числе печени, играют нарушения микроциркуляции, поэтому очень важным представляется изучение внутривисцеральной гемодинамики на микроциркуляторном уровне. Однако таких работ в литературе на сегодняшний день слишком мало. Вероятно, это связано со сложностью оценки кровотока печени на уровне синусоидов [15].

Цель исследования: выявить и сопоставить нарушения микроциркуляции печени у больных ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью методом полигепатографии.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 90 человек, разделенных на три группы: 1-я группа — больные со стабильными формами ишемической болезни сердца в сочетании с гипертонической болезнью ($n=30$; 17 мужчин и 13 женщин), средний возраст 62 ± 12 лет; 2-я группа — больные с гипертонической болезнью без ишемической болезни сердца ($n=30$; 18 мужчин и 12 женщин), средний возраст 59 ± 12 лет; 3-я — группа контроля, в которую вошли практически здоровые лица ($n=30$; 16 мужчин и 14 женщин), средний возраст 31 ± 10 лет. Диагнозы ишемической болезни сердца и гипертонической болезни верифицировались на основании инструментальных методов исследования: ЭКГ, суточного мониторирования ЭКГ, суточного мониторирования артериального давления, эхокардиографии, нагрузочных проб (тредмил теста или велоэргометрии), коронароангиографии.

В 1-ю группу (ИБС) включены больные с постинфарктным кардиосклерозом и стабильной стенокардией II–III ФК, всем пациентам данной группы была проведена ангиопластика и стентирование коронарных артерий. Давность перенесенного инфаркта миокарда составляла от 1 года до 7 лет, 47% пациентов перенесли трансмуральный (Q+) инфаркт миокарда ($n=14$), 53% пациентов — нетрансмуральный (Q-) инфаркт миокарда ($n=16$). Помимо доминирующей ИБС, у всех больных имела место гипертоническая болезнь как фоновая патология.

Во 2-ю группу (ГБ) вошли больные с гипертонической болезнью II стадии без признаков ишемической болезни сердца (гемодинамически значимые стенозы коронарных артерий по данным коронароангиографии отсутствовали). Для объективизации систолической функции левого желудочка проводилась эхокардиография. Исследование проводилось на аппарате Vivid 7 с расчетом фракции выброса ЛЖ по методу Симпсона. Все пациенты 1-й и 2-й

групп имели сохраненную систолическую функцию (ФВ ЛЖ превышала 55%).

Критериями исключения из исследования явились: наличие сахарного диабета, ожирение, заболевания печени в анамнезе, хроническое злоупотребление алкоголем (опросник CAGE), ХСН III–IV ФК по NYHA.

У всех больных оценивался липидный спектр крови (общий холестерин, триглицериды, ЛПНП, ЛПВП).

Нарушение микроциркуляции на уровне печеночных синусоидов оценивали методом полигепатографии (ПГГ). Метод основан на применении электроимпедансометрии (реографии) различных сегментов тела. Он позволяет оценить уровень и характер пульсаций кровенаполнения тканей в области прохождения зондирующего переменного электрического тока. При проведении исследования по методике ПГГ осуществляют регистрацию кривых кровенаполнения (реограмм) в области правой и левой долей печени, селезенки, аорты и легочной артерии. Для выявления фаз сердечного цикла синхронно с кривыми кровенаполнения регистрируют электро- и фонокардиограмму. Совместный анализ указанных выше кривых и их изменений, наблюдаемых при проведении функциональных проб, позволяет выявить локализацию и степень затруднения кровотока в области синусоидов печени. Локализацию указывают как область преимущественной обструкции притока или оттока крови. В частности, это может быть область артериального притока (бассейн артериол печеночной артерии), область венозного притока (бассейн ветвления портальных вен) или область оттока (бассейн центральных печеночных вен). Кривые кровенаполнения в области аорты и легочной артерии позволяют осуществить контроль сохранности общей насосной функции сердца.

Локализацию и степень обструкции внутривисцерального кровотока оценивают по амплитуде и форме кривых кровенаполнения в области печени и селезенки. В частности, при сохранении нормального кровотока (рис. 1) пульсации кровенаполнения тканей в области печени имеют вид кривой артериального пульса (сфигмограммы). При затруднении притока (рис. 2) они принимают вид кривой венозного пульса (флебограммы) или (рис. 3) имеют двухфазную форму (артерио-венозного вида). При затруднении оттока (рис. 4) форма кривой становится платообразной (с резким подъемом в начале систолы и спадом только в конце диастолы).

Методика полигепатографии была реализована на базе диагностического комплекса «Валента» с дополнительным комплектом аксессуаров, разработка



Рис. 1. Полигепатограмма, вариант нормы.



Рис. 2. Полигепатограмма при затруднении артериального и венозного притока (преимущественно по левой доле печени).

Медико-технического творческого объединения «ОО ДиаС СПб» [16].

Анализ форм кривых по данным полигепатографии основан на модели артерио-венозной инъекции, согласно которой основной движущей силой печеночного кровотока являются небольшие струйки артериальной крови. Кровь из портальной вены (до 80% всего porto-печеночного кровотока) подхватывается (инжектируется) небольшими, но энергичными струйками крови из печеночной артерии. Именно артериальный приток обеспечивает в норме общий кровоток печени (схема) [17].

Оценку результатов проводили путем сопоставления выборочных оценок частоты (доли $PC_j = N_{ij}/n_{Cj}$) случаев с разной локализацией затруднения внутрипеченочного кровотока (S_i) при разном характере заболевания (C_j). Доверительный 95% интервал (ДИ95%) определяли исходя из теоретического биномиального распределения выборочных долей [18]. Статистическую значимость выявляемых различий между группами определяли с помощью одностороннего точного критерия Фишера [18].

Результаты и их обсуждение. У всех больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями были

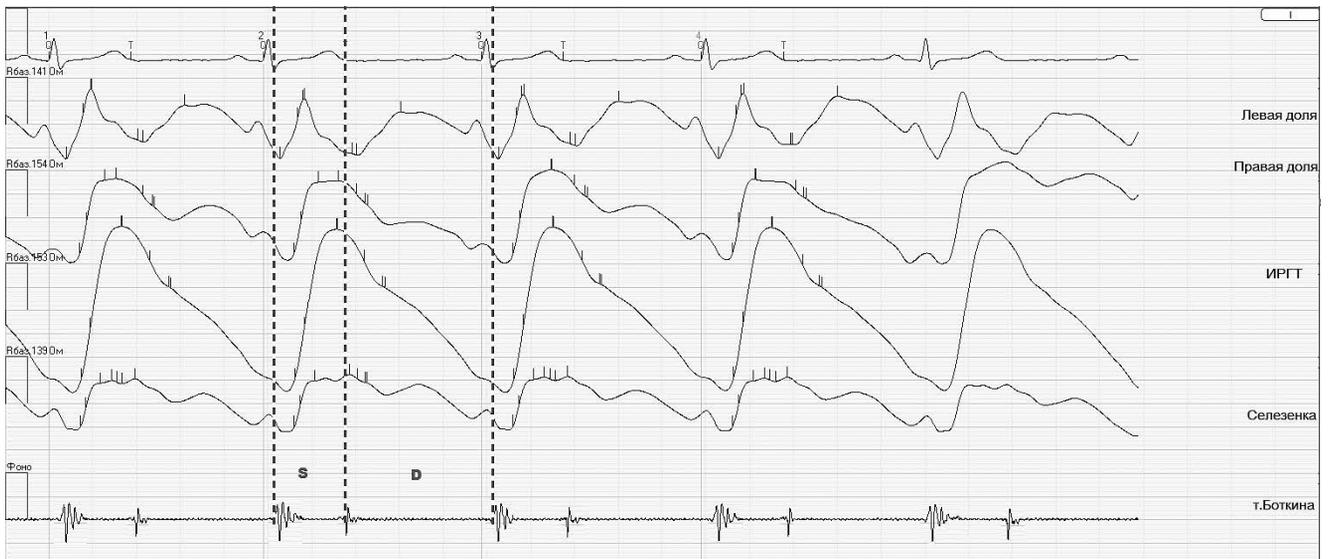


Рис. 3. Полигепатограмма при затруднении венозного притока (преимущественно по левой доле печени).



Рис. 4. Полигепатограмма при затруднении оттока (преимущественно по левой доле печени).

выявлены нарушения внутрипеченочной гемодинамики. Во всех случаях нарушения наблюдались преимущественно по левой доле печени. Однако в каждой из исследуемых групп указанные нарушения были специфичны (рис. 5).

У больных с ишемической болезнью сердца выявлено 22 случая нарушений внутрипеченочной гемодинамики с затруднением (обструкцией) артериовенозного притока крови в синусоидах печени (73% численности группы с доверительным интервалом ДИ95% от 55% до 90%) и только 6 случаев обструкции оттока (20% с ДИ95% от 7% до 35%). В группе пациентов с гипертонической болезнью, напротив, выявлено только 2 случая обструкции артериовенозного притока (6% с ДИ95% от 4% до 20%) и 18 случаев обструкции оттока (60% с ДИ95% от 40% до 78%). У остальных больных отмечены минимальные наруше-

ния кровотока различной локализации. В контрольной группе (среди здоровых) нарушений внутрипеченочной гемодинамики выявлено не было.

Выявленные различия оценок частоты случаев затруднения притока или оттока в группах с различным характером заболевания ССС отчетливо выражены и статистически значимы (таблица). Вероятность случайно получить выборки с такими или еще более выраженными различиями (при отсутствии реальных различий) ничтожна, $p < 10^{-4}$.

Следует отметить, что по данным оценок липидного спектра крови дислипидемия была выявлена у больных ИБС в 100% случаев (с ДИ95% от 88% до 100%), а у больных с ГБ только в 33% случаев (с ДИ95% от 36% до 52%). В группе контроля нарушений липидного спектра крови выявлено не было (рис. 6).

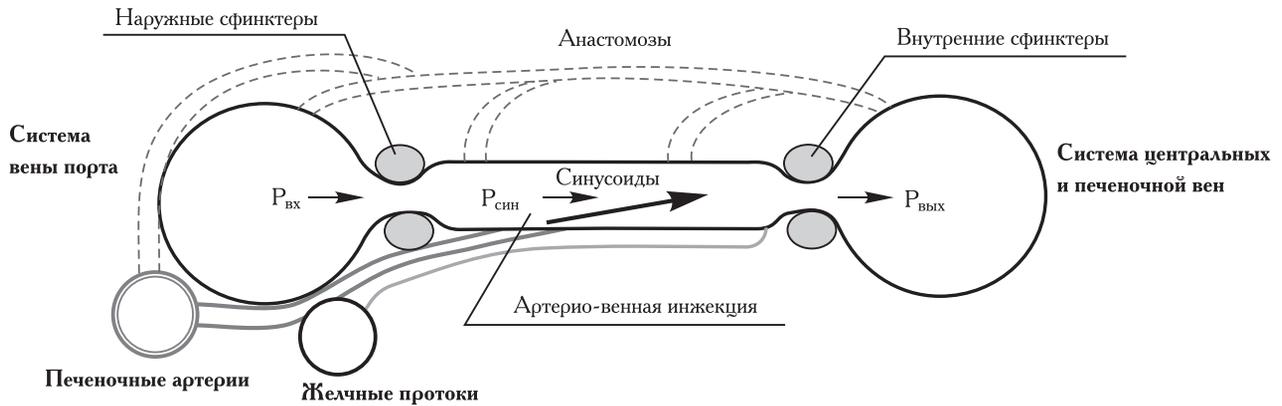


Схема. Схема артерио-венозной инъекции $P_{вх}$ — давление крови «на входе» (в системе портальной вены); $P_{син}$ — давление крови в синусоидах; $P_{вых}$ — давление крови «на выходе» (в системе центральных и печеночных вен).

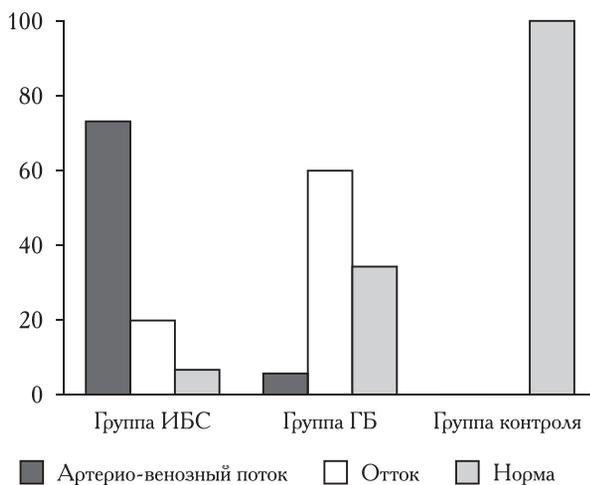


Рис. 5. Частота выявления нарушений кровотока различной локализации.

В ходе обсуждения полученных результатов отмечено следующее.

1. Во всех наблюдаемых нами случаях у больных выявлена перестройка кровотока в синусоидах печени

механизмы регуляции кровотока в печени позволяют скоординировать малейшие сдвиги, происходящие в зонах контакта крови с гепатоцитами [19–23].

При этом выявленные нами различия свидетельствуют, что левая доля берет на себя роль звена первичной компенсации, осуществляя раннюю перестройку локального кровотока. В то же время правая доля является инерционным звеном, изменения в котором происходят на более поздних стадиях патологического процесса. В частности, поражение правой доли печени отмечают в основном на сравнительно поздних стадиях ИБС.

2. У больных ИБС и ГБ наблюдалось статистически значимое различие в характере перестройки внутрипеченочного кровотока. При ГБ изменения кровотока были менее выражены, преобладало замедление оттока. При ИБС явно преобладали случаи затруднения венозного притока крови к синусоидам печени.

Затруднение оттока в синусоидах печени характеризуется развитием синусоидальной гипертензии. По данным литературы, внутрипеченочная синусоидальная

Таблица

Сопряженность оценок локализации области обструкции внутрипеченочного кровотока и характера заболевания ССС

Характер заболевания (С)	Область обструкции кровотока (S)		Численность групп
	на притоке (S1)	на оттоке (S2)	
ГБ (С1)	$n_{11}=2$ ($p_{c1}=4...20\%$)	$n_{21}=18$ ($p_{c1}=40...78\%$)	$n_{c1}=20$
ИБС (С2)	$n_{12}=22$ ($p_{c2}=55...90\%$)	$n_{22}=6$ ($p_{c2}=7...35\%$)	$n_{c2}=28$
Численность подгрупп	$n_{s1}=24$	$n_{s2}=24$	$n_{гр}=48$

(преимущественно в левой доле). Это можно сопоставить с тем, что на начальных стадиях ГБ и ИБС печень, возможно, выполняет функцию компенсации, обеспечивая дозированное поступление в кровь различных вазоактивных веществ. Данное предположение перекликается с известным утверждением, что

гипертензия сопровождается усилением желчеобразования, что в последующем приводит к пролиферативным изменениям внутрипеченочных желчных протоков, нарушению пассажа желчи, концентрации в гепатоцитах продуктов печеночного метаболизма и обратной их диффузии с развитием гиперхолестеринемии.

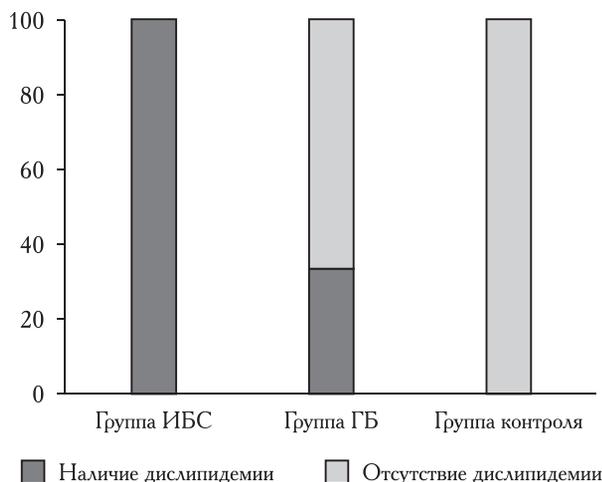


Рис. 6. Частота выявления дислипидемии в исследуемых группах.

Пролиферативные изменения со стороны внутрипеченочных желчных протоков приводят к возрастанию сопротивления в области портальных трактов, отягощая первоначально возникшие гемодинамические нарушения [24]. В этом просматривается наиболее вероятная причина затруднения притока крови к синусоидам печени, наблюдаемого при ИБС и лишь в некоторых случаях при ГБ. Это находит отражение и в оценках нарушений липидного обмена — наиболее выраженное у больных ИБС и менее выраженное при ГБ (рис. 6).

Таким образом, различия в локализации преимущественных затруднений внутрипеченочного кровотока при ГБ и ИБС приводят к разным компенсаторным гемодинамическим реакциям. Исходя из модели артерио-венной инъекции, можно предположить, что у больных ГБ мы чаще видим компенсаторную реакцию печени (затруднение оттока), а у больных ИБС выявляем, как правило, последствия внутрипеченочной синусоидальной гипертензии, обусловленной этой реакцией (затруднение притока).

Выводы.

1. Полученные результаты свидетельствуют о различии нарушений внутрипеченочной гемодинамики у пациентов с ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью.

2. У больных с ГБ нарушения внутрипеченочной гемодинамики связаны с затруднением венозного оттока.

3. У пациентов с ИБС нарушения внутрипеченочной гемодинамики проявляются ослаблением артериовенозного притока.

4. Определение конкретного типа нарушений гемодинамики печени у больных ГБ и ИБС методом полигепатографии может служить дополнительным критерием при назначении индивидуальной патогенетической терапии в комплексной схеме лечения.

Литература

1. Шальнова С. А., Конради А. О., Карпов А. О. и др. Анализ смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в 12 регионах Российской Федерации, участвующих в исследовании «Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в России» // Российский кардиологический журнал. — 2012. — № 5 (97). — С. 6–11.
2. Шальнова С. А., Деев А. Д. Тенденции смертности в России в начале XXI века (по данным официальной статистики) // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2011. — № 6. — С. 5–10
3. Беленков Ю. Н., Мареев В. Ю. Сердечно-сосудистый континуум // Сердечная недостаточность. — 2002. — № 1 (11). — С. 7–11.
4. Лещинский Л. А., Мультиановский Б. Л., Пономарев С. Б. и др. Артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца: клинико-функциональные аспекты // Клиническая медицина. — 2005. — № 6. — С. 33–37.
5. American Society of Hypertension annual meeting. — San Francisco, California: 14–18 May 2005 — San Francisco, 2005.
6. Козлов В. И., Мельман Е. П., Шутка Б. В., Нейко Е. М. Гистофизиология капилляров. — СПб., 1994.
7. Мясников А. Л. Гипертоническая болезнь и атеросклероз. — М.: Медицина, 1965. — 615 с.
8. Кольман Я., Рем К. Г. Наглядная биохимия: пер. с нем. — М.: Издательский дом «Мир», 2009. — 469 с.
9. Mancia G., Fagard R., Narkiewicz K., Redón J., Zanchetti A., Böhm M., Christiaens T., Cifkova R., De Backer G., Dominiczak A., Galderisi M., Grobbee D. E., Jaarsma T., Kirchhof P., Kjeldsen S. E., Laurent S., Manolis A. J., Nilsson P.M., Ruilope L. M., Schmieder R. E., Sirnes P. A., Sleight P., Viigimaa M., Waeber B., Zannad F. ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) // J. Hypertens. — 2013. — Vol. 31 (7). — P. 1281–357.
10. Guillaud O., Boillot O., Sebbag L., Walter T., Bouffard Y., Dumortier J. Cardiovascular risk 10 years after liver transplant // Exp. Clin. Transplant. — 2014. — Vol. 12 (1). — P. 55–61.
11. Kim D., Choi S. Y., E. Park H., Lee W., Kang J. H., Kim W., Kim Y.J., Yoon J. H., Jeong S.H., Lee D. H., Lee H. S., Larson J., Therneau T. M., Kim W. R. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with coronary artery calcification // Hepatology. — 2012. — Vol. 56 (2). — P. 605–613.
12. Сторожаков Г. И., Эттинер О. А. Поражение печени при хронической сердечной недостаточности // Сердечная недостаточность. — 2005. — № 6. — С. 28–31.

13. *Naschitz J. E., Slobodin G., Lewis R. J. et al.* Heart diseases affecting the liver and liver diseases affecting the heart // *Am Heart J.*— 2000.— Vol. 140 (1).— P. 111–120.
14. *Valentova M., von Haehling S., Doehner W. et al.* Liver dysfunction and its nutritional implications in heart failure // *Nutrition.*— 2013.— Vol. 29 (2) — P. 370–378.
15. *Гарбузенко Д. В.* Экспериментальные методы изучения портальной гипертензии // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии колопроктологии.*— 2010.— Т. XX, № 2.— С. 4–12.
16. http://cu.dias.ru/page2_2.html
17. *Ермолов С. Ю., Шабров А. В., Добкес А. Л.* Полигепатография. Гемодинамика. Гепатит.— СПб.: Элби СПб, 2007.— 324 с.
18. *Гланц С.* Медико биологическая статистика: пер. с англ.— М.: Практика, 1998.— 459 с.
19. *Iwakiri Y.* Factors modulating e NOS expression activity // *EASL monothematic conference: Portal hypertension: Advances in knowledge, evaluation and management Budapest, Hungary, January 22–24.*— 2009.— P. 16–17.
20. *Miche T., Feron O.* Nitric oxide synthases: Which, where, how, and why // *J. Clin. Invest.*— 1997.— Vol. 100.— P. 2146–2152.
21. *Pinzani M.* Angiogenesis and inflammation // *EASL monothematic conference: Portal hypertension: Advances in knowledge, evaluation and management Budapest, Hungary, January 22–24.*— 2009.— P. 38.
22. *Tanikawa K.* Hepatic sinusoidal cell and circulation // *J. Gastroenterol. Hepatol.*— 1995.— Vol. 10 (Suppl. 1).— P. 8–11.
23. *Thabut D.* Evolution of fibrosis and portal hypertension: iv. non invasive assessment french approach // *EASL monothematic conference: Portal hypertension: Advances in knowledge, evaluation and management Budapest, Hungary, January 22–24.*— 2009.— P. 46.
24. *Лопухин Ю. М.* Гемосорбция.— 2 е изд., перераб. и доп.— М.: Медицина, 1985.— 288 с.

Поступила в редакцию: 4.06.2015 г.

Контакт: Манасян Анна Григорьевна, e-mail: inlab10@mail.ru.

Сведения об авторах:

Манасян Анна Григорьевна — научный сотрудник лаборатории инновационных методов функциональной диагностики Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова, Россия 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47., e-mail: inlab10@mail.ru;

Ермолов Сергей Юрьевич — канд. мед. наук, научный руководитель лаборатории инновационных методов функциональной диагностики Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова;

Шабров Александр Владимирович — главный научный сотрудник, академик РАН, з. д. н. РФ, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины»;

Добкес Александр Львович — инженер лаборатории инновационных методов функциональной диагностики Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова;

Манасян Софья Григорьевна — врач клиник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова;

Сердюков Сергей Викторович — канд. мед. наук, заведующий лабораторией инновационных методов функциональной диагностики Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова.

Наши подписные индексы:

Агентство «Роспечать» — **57999**

Объединенный каталог «Пресса России» — **42190**

УДК 616.5-001.17-089.843-037:622-057.2

ПРОФИЛАКТИКА ЛИЗИСА АУТОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТОВ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ГЛУБОКИХ ОЖОГОВ

В. В. Солошенко

Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В. К. Гусака, г. Донецк

PREVENTION OF SKIN GRAFTS LYSIS UPON THE SURGICAL TREATMENT OF DEEP BURNS

V. V. Soloshenko

V. K. Gusak Institute of Emergency and Restorative Surgery, Donetsk

© В. В. Солошенко, 2015 г.

В статье представлено исследование, направленное на изучение иммунологических маркеров, позволяющих прогнозировать отторжение пересаженных аутодермотрансплантатов у пострадавших с глубокими ожогами. Изучены иммунологические показатели, свидетельствующие об аутоенсибилизации к разрушенным элементам кожи, а именно наличие в сыворотке крови обожженного антинуклеарных антител и антител к экстрагируемым антигенам. Проведен анализ хирургического лечения в группах обожженных шахтеров, где применялся разработанный способ прогнозирования лизиса пересаженных аутодермотрансплантатов. Для оценки эффективности разработанного способа профилактики лизиса пересаженных аутодермотрансплантатов были сформированы две группы по 20 шахтеров, пострадавших при взрывах метано-угольной смеси в глубоких шахтах Донбасса. Выявлено, что в группе пострадавших, где применялся разработанный способ раннего выявления аутоенсибилизации, количество аутодермотрансплантаций на одного больного снизилось в 1,72 раза, длительность стационарного лечения сократилась на 17 суток.

Ключевые слова: глубокие ожоги, лизис, профилактика, иммунологические маркеры.

The article presents a study of immunological markers that predict the rejection of skin grafts in patients with deep burns. We used the immunological indicators of auto-sensitization to destructed elements of the skin, namely, serum antinuclear antibodies and antibodies against extractable antigens. Of two groups, which comprised 20 miners injured by methane-coal mixture explosions in deep mines of Donbass, in the group where these indicators were used to predict auto-sensitization, the rate of autologous skin grafts per patient was 1.72 times lower, and the time of inpatient treatment was 17 days shorter.

Key words: deep burns, lysis, prevention, immunological markers.

Введение. Существует довольно много клинических признаков, оценивающих готовность ожоговой раны к аутодермотрансплантации: наличие полноценной, розового цвета грануляционной ткани, отсутствие гнойного отделяемого и некроза, обнаженная фасция без жировой клетчатки, серозное отделяемое ран и др. Кроме того, по данным литературы, для хорошего приживления свободных расщепленных аутодермотрансплантатов количество гемоглобина в крови должно быть больше 90 г/л, содержание белка в крови не менее 50 г/л [1–3]. Однако даже при наличии всех перечисленных условий существует риск отторжения аутодермотрансплантата при выполнении очередной операции спустя 2–3 недели после травмы, особенно когда уже были проведены одна или несколько пересадок кожи. Причиной лизиса пересаженных аутодермотрансплантатов через несколько недель после травмы часто становится выработка антител к клеточным

структурам кератиноцитов [4, 5]. Особенно актуален вопрос прогнозирования отторжения пересаженных аутодермотрансплантатов у пострадавших от обширных глубоких ожогов с комбинированной и сочетанной травмой, когда тяжесть состояния может существенно ухудшиться в результате лизиса пересаженных аутодермотрансплантатов.

Целью данного исследования было выявление иммунологических маркеров аутоенсибилизации к клеткам собственной кожи, а также оценка эффективности разработанного способа прогнозирования лизиса аутодермотрансплантатов.

Материалы и методы исследования. Иммунологические исследования выполнялись в лаборатории Института неотложной и восстановительной хирургии им. В. К. Гусака. Они были направлены на выявление иммунологических маркеров, позволяющих прогнозировать отторжение пересаженных аутодермотранс-

плантатов. Вначале изучалось исходное состояние иммунитета на наличие антинуклеарных антител. Для этого у пострадавшего с обширным глубоким ожогом при поступлении в Донецкий ожоговый центр брали венозную кровь в объеме 5 мл. Повторное исследование проводили через 3 недели или за сутки до очередной планируемой аутодермотрансплантации. Нас интересовала аутосенсibilизация к разрушенным элементам кожи.

Антинуклеарный фактор определяли в сыворотке крови обожженных с использованием наборов MosaicHep-20-10/Liver (Monkey) ИФТ (Euroimmun AG, Германия). В наборы были включены предметные стекла с биочиповыми реакционными участками, поверхность которых покрыта «Hep-20-10» клетками и срезами печени приматов. Принцип метода состоит в том, что на первой стадии реакции стекла инкубируют с образцами разведенной крови обожженного. Наличие в позитивных образцах специфических антител классов IgA, IgG и IgM связывают с ядерными антигенами. На второй стадии связанные антитела выявлялись флуоресцентным окрашиванием, которое происходит в результате инкубации стекол с мечеными антителами к определенным иммуноглобулинам человека. Характер свечения оценивался с помощью флуоресцентного микроскопа (Eurostar II Plus, Euroimmun AG, Германия). Определялись также антитела к экстрагируемым ядерным антигенам иммуноферментным методом — с использованием наборов ENA-screen (Orgentec, Германия). Измерение оптической плотности проводили с помощью планшетного фотометра Multiscan Ascent Elisa Reader (LabSystems, Финляндия) при длине волны 450 и 620 нм. Обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения Ascent Software. При проведении данного исследования результат иммунологического исследования был качественным — наличие антинуклеарных антител и антител к экстрагируемым антигенам либо их отсутствие. По данным других иммунологических методик [6] у здоровых людей определяется титр антинуклеарных антител 1:40 и 1:80, при системных заболеваниях — 1:160 и выше, однако при проведении настоящей работы определение титра не входило в рамки исследования.

Прогнозирование отторжения аутодермотрансплантатов выполняли следующим образом: обожженному пациенту с глубокими ожогами на вторые сутки после поступления в ожоговый центр производили забор венозной крови для иммунологического исследования. Этот анализ был необходим для выявления в сыворотке крови обожженного антител к фрагментам кожи человека. В норме антитела к собственной коже у здоровых молодых мужчин

по нашей методике исследования не выявляются. Однако при наличии заболеваний соединительной ткани или при перенесенной в течение года травме с обширным поражением кожи результат может быть положительным. В нашей работе у пациентов группы исследования на вторые сутки антител в сыворотке крови не выявлено ни в одном случае. Повторное иммунологическое исследование на наличие антинуклеарного фактора проводили не ранее чем через три недели после травмы, непосредственно за сутки перед аутодермотрансплантацией.

Для решения поставленной задачи исследования, а именно изучения эффективности разработанного нами способа профилактики отторжения расщепленных аутодермотрансплантатов у пострадавших от глубоких ожогов (Патент Украины № 62330 от 25.08.2011), были сформированы две группы. Основную группу составили 20 обожженных шахтеров, пострадавших при взрывах метано-угольной смеси, у которых применялся разработанный способ диагностики во время лечения в Донецком ожоговом центре в период с 2008 по 2011 год. Другие 20 обожженных шахтеров со сходными признаками были отобраны для формирования группы сравнения, они находились на стационарном лечении в Донецком ожоговом центре в период с 2004 по 2007 год. Общая площадь поражения в основной группе составила $54,1 \pm 4,44\%$ поверхности тела, а в группе сравнения — $44,75 \pm 3,49\%$ поверхности тела. Площадь глубокого ожога соответственно в группах составила $9,65 \pm 1,71\%$ поверхности тела в основной группе и $11,30 \pm 1,79\%$ в группе сравнения. В результате сравнения средних обеих групп по общей площади поражения и площади глубокого ожога группы сопоставимы, так как $p=0,133$ для общей площади поражения и $p=0,44$ соответственно для площади глубокого ожога, использован критерий Манна-Уитни.

Тактика хирургического лечения в обеих группах была одинаковой, наличие глубокого дермального ожога III степени считалось показанием к выполнению ранней некрэктомии. При «пограничных» ожогах вне функционально важных локализаций ран тактика хирургического лечения была выжидательной до формирования четкой границы демаркации некроза. Для проведения некрэктомии были одинаковые показания и условия: наличие плотного сухого некротического струпа, соответствующего глубокому дермальному ожогу, стабильное состояние обожженного. Первая некрэктомия в основной группе пострадавших выполнялась на $15,35 \pm 1,79$ сутки после травмы и $11,05 \pm 1,44$ сутки в группе сравнения. Различий по данному признаку между группами не выявлено, $p=0,74$. Некротический струп в иссле-

дуемой группе удалаяся за $1,90 \pm 0,28$ некрэктомий, а в группе сравнения за $1,7 \pm 0,26$ таких же операций (различий нет, $p=0,71$), что говорит о том, что тактика хирургического лечения была одинаковой и не влияла на полученные результаты.

Готовность раны к аутодермотрансплантации оценивалась по известным клиническим признакам: наличие мелкозернистой грануляционной ткани, дающей отпечаток при прикосновении марлевого тампона. Если ожоговая рана была не готова к аутодермотрансплантации, ее закрывали временным биологическим покрытием либо использовали мази в соответствии со стадией раневого процесса. Первая аутодермотрансплантация выполнялась в группе исследования на $21,00 \pm 0,89$ сутки после травмы, в то время как в группе сравнения эта операция выполнялась на $19,85 \pm 2,28$ сутки. По данному признаку группы также оказались сопоставимы, $p=0,32$.

Предметом нашего исследования было выявление аутосенсibilизации для своевременной коррекции иммунного статуса путем назначения глюкокортикостероидов для предупреждения отторжения пересаженных аутодермотрансплантатов и профилактики лизиса ранее пересаженных расщепленных кожных трансплантатов. Положительным результатом было отсутствие проявлений лизиса трансплантатов. Приживление расщепленных кожных трансплантатов после операции оценивали на 5-е сутки как удовлетворительное при сохранении жизнеспособными

роза в реципиентной ране, механические нарушения целостности трансплантата не учитывались, как явления, не соответствующие дизайну исследования.

Результаты исследования. Среди обожженных шахтеров основной группы у 5 (25%) на 3-й неделе лечения в образцах крови были выявлены антинуклеарный фактор и антитела к экстрагируемым ядерным антигенам. Наличие в сыворотке крови обожженного антинуклеарного фактора и антител к экстрагируемым ядерным антигенам расценивали как угрозу отторжения пересаженных аутодермотрансплантатов. Основываясь на данных иммунологического исследования (при наличии аутосенсibilизации), больному накануне операции назначали иммуносупрессивную терапию в виде таблетированного преднизолона в дозе 20–40 мг в сутки в зависимости от массы тела. При язвенной патологии желудка и двенадцатиперстной кишки назначали глюкокортикостероиды парентерально в эквивалентной дозировке. При негативном результате — отсутствии антител, считали, что угрозы отторжения аутодермотрансплантатов нет, следовательно, иммуносупрессивная терапия не нужна.

Визуально результаты хирургического лечения оценивали на 4–5-е сутки после выполненной аутодермотрансплантации, т. е. на 26–30-е сутки после ожога. Во время перевязок оценивали состояние аутодермотрансплантатов. Количественные данные представлены в таблице.

Таблица

Наличие лизиса аутодермотрансплантатов в группах

Время контроля состояния раны в группах	26–30-е сутки		40–45-е сутки	
	приживление	лизис	приживление	лизис
Группа исследования	19 (n=20)	1	15 (n=16)	1
Группа сравнения	14 (n=20)	6	13 (n=16)	3

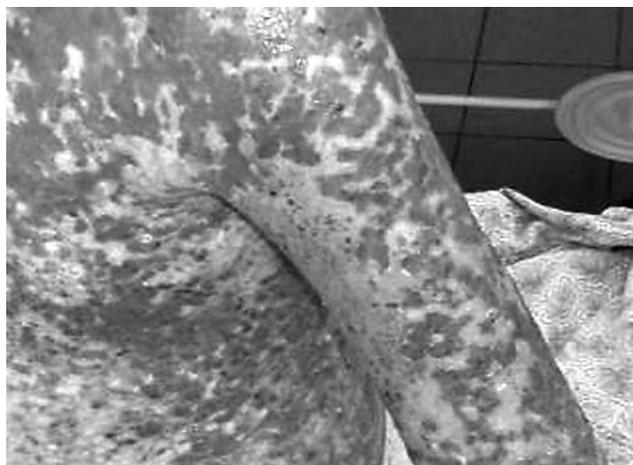


Рисунок. Больной С. Лизис пересаженных аутодермотрансплантатов в ожоговых ранах.

не менее 90% площади трансплантатов. Наличие лизиса трансплантата (уменьшение более чем на 50%), отсутствие краевой эпителизации расценивалось как негативный результат. Вид ожоговой раны с лизисом ранее пересаженных аутодермотрансплантатов представлен на рисунке. Отторжение аутодермотрансплантата вследствие вторичного некр-

На 35-е сутки после травмы нам удалось ликвидировать полностью ожоговые раны у 4 обожженных основной группы (они выбыли из исследования), поэтому в дальнейшем состоянии аутодермотрансплантатов после операции оценивалось у 16 шахтеров. Всем обожженным шахтерам основной группы (n=16) выполнено повторное иммунологическое исследование сыворотки крови на 35-е сутки после травмы. При этом наличие антител к собственной коже в эти сроки было впервые выявлено у 7 обожженных основной группы, что было сигналом для проведения иммуносупрессивной терапии. С учетом 5 выявленных ранее случаев аутосенсibilизации после трех

недель лечения в основной группе было 13 обожженных, которые получали глюкокортикоиды. Так же как и в первом случае, на 5-е сутки после операции у этих пострадавших была проведена оценка состояния пересаженных накануне аутодермотрансплантатов.

В группе сравнения у 4 больных после четырех недель также удалось ликвидировать все ожоговые раны, поэтому дальнейшее исследование результатов хирургического лечения проводилось только у 16 обожженных шахтеров этой группы. Данные о приживлении аутодермотрансплантатов у пострадавших группы сравнения также учитывали на 4–5-е сутки после выполнения операции. Выявлено, что у некоторых пострадавших группы сравнения иммуносупрессивная терапия проводилась с опозданием, что подтверждено клиническими описаниями лизиса трансплантатов и данными листов назначений у 3 обожженных группы сравнения.

Как видно из таблицы, в группе сравнения лизис аутодермотрансплантатов регистрировали в 6 раз чаще, чем у пациентов основной группы, на 26–30-е сутки после травмы, и в 3 раза чаще на 40–45-е сутки лечения. В основной группе фиксировали явления лизиса аутодермотрансплантатов у одного больного на 30-е сутки исследования и еще у одного на 45-е сутки лечения. При проведении анализа возникшей неудачи выявлено, что у обоих пациентов основной группы удалось прекратить лизис трансплантатов при увеличении суточной дозы преднизолона с 24 до 40 мг. Следовательно, явление лизиса у пациентов основной группы обусловлено выбором малой дозы глюкокортикостероида, что было своевременно отрегулировано спустя несколько суток.

Проведенное иммунологическое исследование было качественным и не свидетельствовало о степени иммунологических нарушений в виде роста титра антинуклеарных антител, однако своевременная профилактика лизиса пересаженных трансплантатов оказала положительное влияние на результаты хирургического лечения в основной группе. Так, количество аутодермотрансплантаций в основной группе составило $1,75 \pm 0,23$ на одного обожженного, в то время как в группе сравнения этот показатель был $3,00 \pm 0,44$. По данному показателю группы достоверно различались, $p=0,016$. Считаем, что за счет внедренной в практику иммунологической диагностики нам удалось сократить количество повторных операций по пересадке расщепленных аутодермотрансплантатов у пациентов основной группы. Благодаря этому длительность стационарного лечения в основной группе была $40,5 \pm 3,18$ суток, в то время как в группе сравнения — $57,5 \pm 5,75$ суток, что при статистической обработке показало достоверные различия между группами по данному признаку, $p=0,032$.

Выводы. В результате проведенного исследования констатировано, что благодаря разработанному и внедренному в клиническую практику иммунологическому способу профилактики отторжения расщепленных свободных аутодермотрансплантатов у пострадавших от глубоких ожогов нам удалось в 1,72 раза уменьшить количество повторных аутодермотрансплантаций. Это позволило в среднем на 17 суток сократить длительность стационарного лечения при одинаковой тактике оперативного лечения в группах обожженных шахтеров.

Литература

1. Алексеев А. А., Худяков В. В., Крутиков М. Г. К вопросу о хирургической обработке гранулирующих ожоговых ран // Комбустиология. — 2004. — № 18. — Режим доступа: www.burn.ru.
2. Фисталь Э. Я. Осложнения ожоговых ран: классификация, клиника, профилактика, лечение // Комбустиология. — 2003. — № 15. — Режим доступа: www.burn.ru.
3. Зуев С. Г. Причины лизиса расщепленного кожного лоскута у больных с онкопатологией и опухолевыми процессами // Научно-информационный сборник АрхМедиКат. — 2006. — № 13. — С. 10–11.
4. Гусак В. К., Николенко Ю. И., Фисталь Э. Я. Имунная компетентность кожи как один из механизмов развития аутоагрессии при термических повреждениях // Вестник гигиены и эпидемиологии. — 2000. — Т. 2, № 4. — С. 256–261.
5. Ярец Ю. И., Новикова И. А. Лабораторный прогноз риска отторжения аутодермотрансплантата // Вестник хирургии им. И. И. Грекова. — 2010. — № 2. — С. 34–38.
6. Лапин С. В. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний. — СПб.: Человек, 2010. — 272 с.

Поступила в редакцию: 14.05.2015 г.

Контакт: Солошенко Виталий Викторович, burncenter.us@gmail.com

Сведения об авторе:

Солошенко Виталий Викторович — канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела термических поражений и пластической хирургии Института неотложной и восстановительной хирургии им. В. К. Гусака. 83045, г. Донецк, Ленинский проспект, д. 47.
Тел: +380623875010, e-mail: burncenter.us@gmail.com.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

УДК 616-078.33:577.21

К ВОПРОСУ О МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ГЕПАТИТА D В КЫРГЫЗСТАНЕ

¹Ю. В. Останкова, ²К. А. Ногойбаева, ¹А. В. Семенов, ¹Арег А. Тоголян¹НИИ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия²КГМИ переподготовки и повышения квалификации, Бишкек, Кыргызская Республика

ON MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF HEPATITIS D IN KYRGYZSTAN

¹Yu. V. Ostankova, ²K. A. Nogoybaeva, ¹A. V. Semenov, ¹A. A. Totolian¹Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia²Kyrgyz State Medical Institute of Retraining and Professional Development, Bishkek, Kyrgyz Republic

© Коллектив авторов, 2015 г.

Коинфекция или суперинфекция HBV и HDV достоверно ассоциированы со значительно более тяжелыми заболеваниями печени по сравнению с инфицированием только вирусом гепатита В, что повышает внимание эпидемиологов к путям передачи и источникам вируса гепатита D, в особенности к гиперэндемичным регионам и странам. При изучении 30 образцов плазмы от пациентов из Кыргызстана выявлены HDV генотипа I с высокой вариабельностью участка гена, кодирующего дельта-антиген, что может являться свидетельством как многочисленных независимых заносов штаммов на территорию страны, так и эволюции вируса в географически изолированном регионе. Высокое сходство некоторых изолятов со штаммами, характерными для стран-соседей, эндемичных по HDV, а также плотная кластеризация других изолятов подтверждают предположение. Выявление особенностей распространения и роль эндемичности в циркуляции генотипов вируса гепатита D имеют большое значение.

Ключевые слова: гепатит D, молекулярная эпидемиология, РНК HDV, полиморфизм.

HBV and HDV co-infection or superinfection is significantly associated with markedly more severe liver disease compared with that upon a mono-infection with either of the viruses. This rises the attention of epidemiologists to the sources and transmission routes of hepatitis D, especially in hyper-endemic regions and countries. In 30 patient plasma samples collected in Kyrgyzstan, genotype I HDV was found. The high variability of viral genome region encoding delta-antigen may be an indication of numerous independent entries of different HDV strains into the country and, also, of a high rate of evolution of the virus in a geographically isolated region. The high similarity of some isolates with strains specific for neighboring countries endemic for HDV, as well as the close clustering of other isolates confirm both hypotheses. It is important to identify propagation characteristics and the role of endemicity in the circulation of HDV genotypes of D is of great importance.

Key words: hepatitis D, molecular epidemiology, RNA HDV, polymorphism.

Введение. Вирус гепатита D является одним из самых маленьких РНК-вирусов, составляя 1,7 кб. Особенностью данного вируса является его неспособность к самостоятельному существованию. Репликация вируса поддерживается за счет вируса гепатита В, с которым сосуществует гепатит D. Коинфекция или суперинфекция HBV и HDV достоверно ассоциированы со значительно более тяжелыми заболеваниями печени по сравнению с инфицированием только вирусом гепатита В, что повышает внимание эпидемиологов к путям передачи и источникам вируса гепатита D, в особенности к гиперэндемичным регионам и странам [1, 2].

Оценка маркеров репликации вируса гепатита дельта у больных с хроническим вирусным гепатитом В с активным течением инфекции и выраженными биохимическими маркерами повреждения печени показала высокую частоту встречаемости HDV с серонегативным течением среди пациентов с хроническим вирусным гепатитом В [3].

На основании процентного содержания нуклеотидной идентичности с геном, гепатит D подразделяют на три генотипа, распространенность которых достоверно ассоциирована с географическим происхождением. При этом динамика распространения вируса имеет сложную структуру и приводит к рас-

ширению ареалов эндемичности за счет высокой генетической вариабельности. Следует отметить, что наиболее часто встречающийся генотип I ведет к высокому риску хронизации инфекции.

В связи с вышесказанным внимание эпидемиологов к путям передачи и источникам вируса гепатита D, в особенности к гиперэндемичным регионам и странам, имеет более чем серьезное основание.

Целью нашей работы было изучение особенностей генетической структуры гепатита D в гиперэндемичном регионе Кыргызстана.

Материалы и методы исследования. В работе использованы образцы плазмы крови 30 больных с верифицированным вирусным гепатитом B и гепатитом D, полученные от коренных жителей Кыргызстана.

Выделение РНК проводили в соответствии с протоколом методики Хомчинского и др. с дополнением набора реагентов Trizol (Invitrogen) с модификацией фенольной экстракции и гомогенизацией образца в буфере с использованием мочевины и меркаптоэтанола [4, 5].

Обратную транскрипцию проводили на неспецифичных праймерах с использованием коммерческого набора «Реверта-Л» производства ФБУН ЦНИИЭ.

Для амплификации использовали праймеры, фланкирующие фрагмент кДНК гипервариабельного участка гена, кодирующего дельта-антиген, длиной 400 п. о. Постановку полимеразной цепной реакции (ПЦР) осуществляли по следующей схеме: реакционная смесь для ПЦР, объемом 25 мкл включала: 2,5 мкл буфера (750 мМ Трис-НСl (рН 8,8), 200 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,1% (v/v) твин 20), 2,5 мкл dNTP (2,0 мМ каждого нуклеозидтрифосфата), 4 мкл MgCl₂ (25 мМ), 2 мкл DMSO, по 30 пМ каждого олигопраймера, 0,7 мкл рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы (5 е. а./мкл), 1 мкг кДНК-матрицы (объем зависит от концентрации), вода без нуклеаз до конечного объема. Амплификацию проводили на программируемом термоциклере фирмы «ДНК-технология» (Москва) при следующих условиях: после денатурации (95° С, 5 мин) проводили 40 циклов амплификации в режиме 94° С — 30 с; 55° С — 30 с; 72° С — 50 с и заключительный синтез 72° С (7 мин). Для предотвращения испарения в смесь добавляли 60 мкл минерального масла.

Качество ПЦР определяли визуально в агарозном геле, окрашенном бромистым этидием.

Секвенирующую реакцию проводили согласно инструкции к набору GenomeLab™ TMDTCS — Quick Start Kit (Beckman Coulter Inc., США), в трех повторях, на прямых и обратных праймерах. Реакционная смесь для секвенирующей реакции включала: DTCS Quick Start Master Mix (8 мкл), прямой или обрат-

ный праймер (1,6 мкМ), очищенный продукт амплификации (объем зависел от концентрации), воду до конечного объема 20 мкл. Постановку реакции осуществляли на термоциклере BIO-RAD CFX384 в режиме: 30 циклов амплификации 96° С — 20 сек; 50° С — 20 сек; 60° С — 4 мин.

Продукты первичной амплификации и секвенирующей реакции очищали по следующей методике: смесь из 2 мкл 3М ацетата натрия, 2 мкл 0,125М EDTA и 1 мкл гликогена вносили в 20 мкл продукта амплификации и инкубировали при комнатной температуре в присутствии охлажденного 96% этилового спирта 15 минут. Центрифугировали при 14 000 об/мин, 4° С 15 мин. Супернатант удаляли и дважды промывали осадок охлажденным 70% этиловым спиртом, повторяя процедуру центрифугирования на холоду. Промытый осадок сушили.

Для контроля качества очищения продуктов амплификации осадок растворяли в 30 мкл воды и проводили оценку в 1,5% агарозном геле с добавлением раствора бромистого этидия (0,5 мкг/мл), визуализировали в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе. Очищенный фрагмент достаточной концентрации использовали для постановки секвенирующих реакций.

Для анализа продукта секвенирующей реакции очищенный осадок растворяли в SLS-буфере, содержащем формамид, и помещали в генетический анализатор.

Анализ фрагментов проводили на генетическом анализаторе GenomeLab GeXP. Первичный сравнительный анализ полученных участков генома HDV проводили с помощью программы NCBI Blast с фрагментами последовательностей следующих изолятов:

HDV Russia Yakut-8 AJ309871.1

HDV Russia 1 AM902147.1

HDV Russia 2 AM902162.1

HDV Iran KJ744224.1

HDV Vietnam KJ924996.1

HDV Mongolia 1 AB230977.1

HDV Mongolia 2 AB206531.1

HDV Mongolia 3 AB119043.1

HDV Turkey 1 AM779581.1

HDV Turkey 2 AM779596.1

HDV genotype2 AF209859.1

HDV genotype3 HF679406.1

Выравнивание последовательностей осуществляли с помощью программы MEGA5, используя алгоритм ClustalW. Поскольку для вируса гепатита дельта показана высокая скорость эволюции, для филогенетического анализа рассматривали расстояния между последовательностями методом невзвешенной попарной группировки с усреднением (UPGMA). Для оценки достоверности построенных деревьев проведен бутстреп (bootstrap) анализ для 500 повторностей.

Результаты и их обсуждение. Для различных регионов мира, эндемичных по гепатиту D, показана распространенность разных генотипов вируса [6–8]. При изучении 30 образцов плазмы от пациентов из Кыргызстана выявлен вирус гепатита D наиболее распространенного в мире I типа. Таким образом, мы не можем подтвердить или опровергнуть значимость генотипа HDV для развития заболевания [9].

Показана высокая гетерогенность исследуемого участка гена, кодирующего дельта-антиген. Дендрограмма на рис. 1 отражает степень генетического сходства изолятов HDV, исследованных в нашей работе. Несмотря на общую принадлежность изолятов к генотипу I, очевидно разделение исследуемой группы на плотный кластер генетически сходных штаммов и несколько штаммов, имеющих отличные полиморфные варианты (рис. 1).

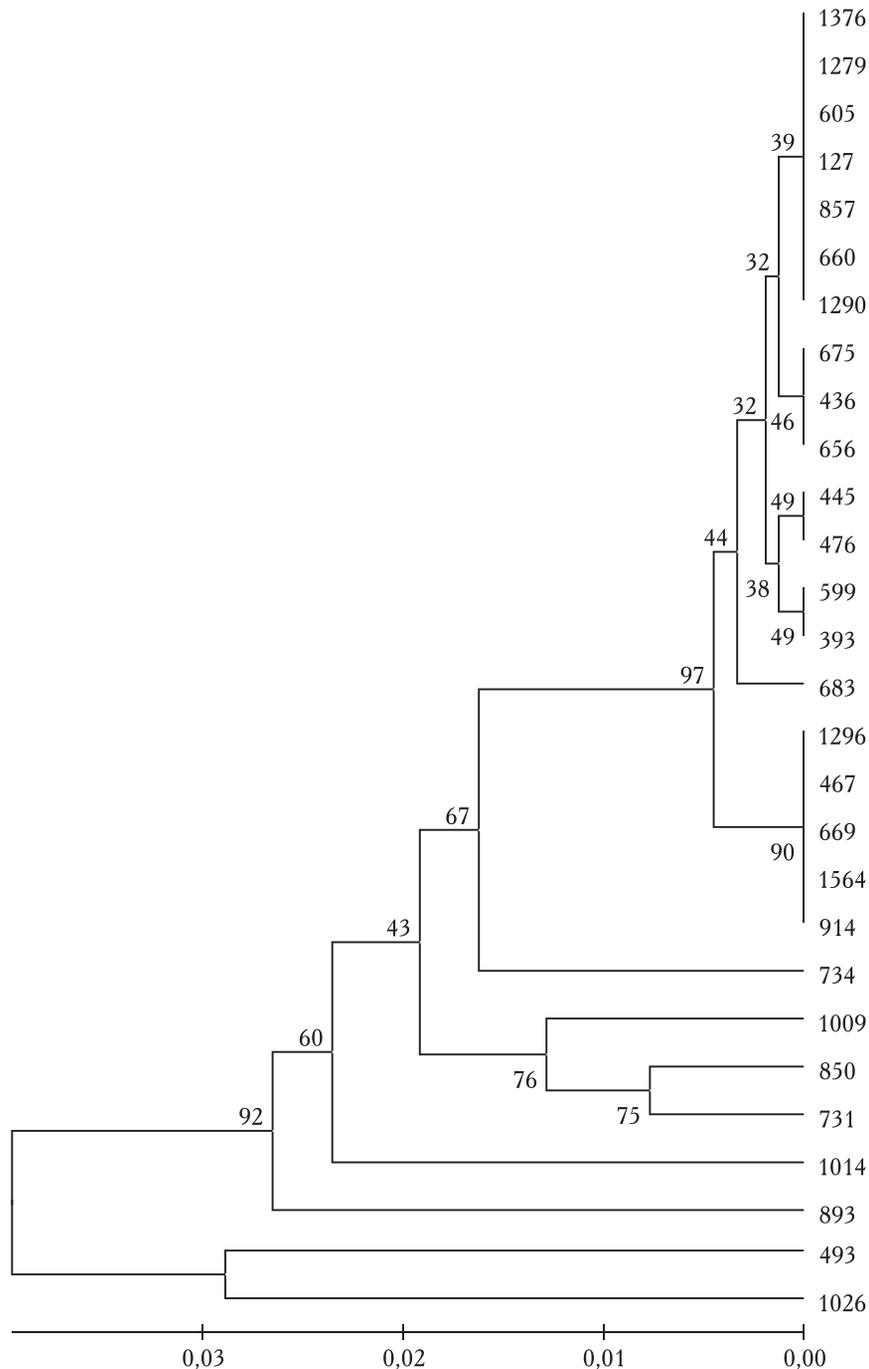


Рис. 1. Филогенетическое древо изолятов вируса гепатита дельта из Кыргызстана, построенное по результатам анализа последовательности гипервариабельного участка гена, кодирующего дельта-антиген (UPGMA, bootstrap N=500).

Имеет ли данное разделение географическую основу, зависит ли от иммунитета хозяина или связано с полиморфными вариантами гепатита В, еще предстоит выяснить.

Для сравнительного анализа в международной базе данных были выбраны максимально идентичные полученным фрагментам штаммы HDV. Кроме

а также варианты генотипов HDVII и HDVIII (рис. 2). Дендрограмма отражает степень генетического сходства изолятов HDV, исследованных в нашей работе и представленных в международной базе данных. Очевидно, что, несмотря на гетерогенность изолятов из Кыргызстана относительно друг друга, их вариабельность имеет узкие пределы.

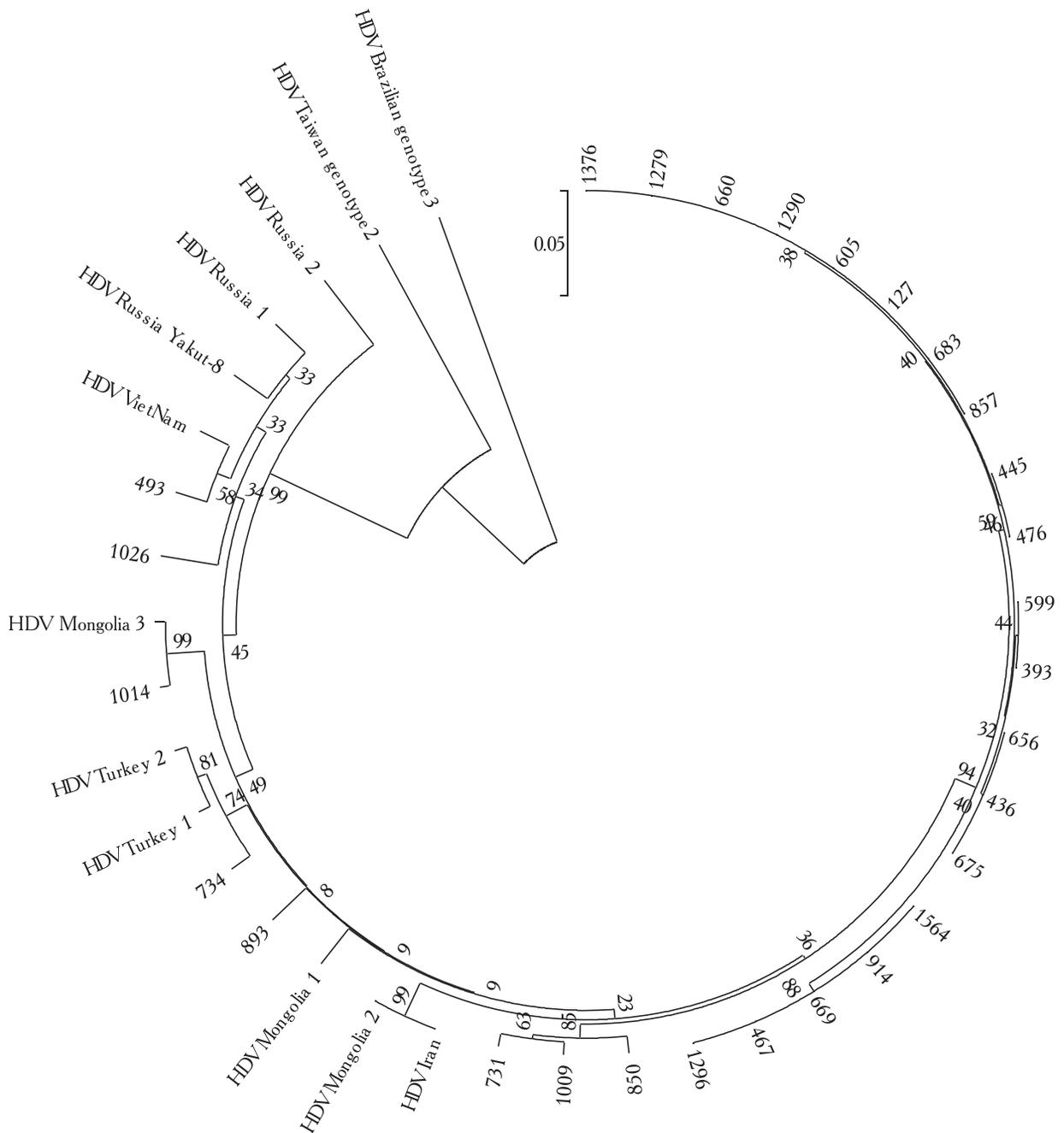


Рис. 2. Сравнительный анализ генетической дистанции между изолятами вируса гепатита дельта из Кыргызстана и штаммами, представленными в международной базе данных, на основании гипервариабельного участка гена, кодирующего дельта-антиген (UPGMA, bootstrap N=500).

того, представлены штаммы, характерные для некоторых географических регионов, соседствующих с Кыргызстаном, и/или эндемичных по HDV,

Можно предположить, что гетерогенность вируса гепатита D в пределах генотипа является отражением эволюции вируса в последовательности эпидеми-

ческих вспышек с древнейших времен. В то же время, учитывая, что Кыргызстан является не только гиперэндемичным по гепатиту D, но и сравнительно закрытым географическим регионом, высокая вариабельность вируса может быть свидетельством современного активного эволюционного процесса вируса. Помимо эволюционных причин гетерогенности патогена в стране, значимую роль могут играть многочисленные независимые заносы патогена. При этом особый интерес представляет высокое сходство изолятов с описанными в международной базе данных образцами, характерными для Монголии, что может подтверждать как гипотезу многочисленных завозов штаммов, в том числе в ходе крупных миграционных волн, из этого обширного региона на территорию страны, так и гипотезу независимой гомологичной эволюции вируса.

Нам представляется наиболее вероятным, что обе гипотезы правомерны. Из рис. 2 очевидно генетическое сходство отдельных изолятов со штаммами, выявленными в географически близлежащих странах. Эволюционным процессом в ограниченных пределах закрытого региона можно объяснить возникновение целого кластера изолятов, существенно отличающихся от ближайших генетических соседей. Тем не менее, необходимо учитывать высокую скорость мутации вируса на протяжении болезни пациента, особенно значимую в связи с ассоциацией с обострением и хронизацией заболевания [10].

Известно, что сейчас с каждым годом, по мере изучения HDV, все чаще появляются сведения о высокой вариабельности гепатита дельта и выявлении географически ассоциированных подтипов. При

этом одни исследователи предлагают такие группы рассматривать как новые генотипы вируса, а другие не видят такой необходимости [11–13]. Возможно, общепринятое типирование HDV на основании различий полиморфных вариантов гипервариабельного гена, кодирующего дельта-антиген, нуждается в некоторой корректировке. Дальнейший филогенетический анализ как на основе исследований расширенной группы изолятов, так и на основе полногеномного секвенирования имеющихся изолятов, а также выявление их ассоциации с полиморфными вариантами гепатита В может предоставить более подробную информацию о формировании подгрупп в филогенетической ветви HDVI, что может быть использовано для более тонкого анализа путей распространения вируса гепатита дельта и сопутствующего гепатита В.

Заключение. Выявление особенностей распространения и роль эндемичности в циркуляции определенных генотипов вируса гепатита D имеют существенное значение как для отдаленных регионов РФ, так и для наших ближайших соседей, где распространенность HDV высока, а структура генома и пути распространения вируса недостаточно изучены. Особенно важной эта проблема стала в последние годы, когда в центральные регионы РФ приезжают на заработки все большее количество выходцев из южных и восточных стран — бывших республик СССР, эндемичных HDV. Это ставит перед нами задачу популяционного скринирования больных гепатитом В с целью выявления гепатита D, дальнейшего типирования и секвенирования полного генома вируса дельта для выявления путей и источников инфекции из эндемичных стран ближайшего зарубежья.

Литература

- Casey J. L., Brown T. L., Colan E. J., Wignall F. S., Gerin J. L. A genotype of hepatitis D virus that occurs in northern South America // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 1993. — Vol. 90, № 19. — P. 9016–9020.
- Chien R.-N., Chiu K.-W., Chu C.-M., Liaw Y.-F. Acute hepatitis in HBsAg carriers: comparisons among clinical features due to HDV superinfection and other etiologies // *Chinese Journal of Gastroenterology*. — 1991 — Vol. 8. — P. 8–12.
- Семенов А. В. Распространенность серонегативного гепатита D среди пациентов с хроническим вирусным гепатитом В // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. — 2012. — № 6. — С. 106–109.
- Chomczynski P., Sacchi N. // *Analytical Biochemistry*. — 1987. — P. 156–159.
- Chomczynski P., Sacchi N. // *Nature Protocols*. — 2006. — Vol. 1. — P. 581–585.
- Ivaniushina V., Radjef N., Alexeeva M., Gault E., Semenov S., Salhi M., Kiselev O., Dény P. Hepatitis delta virus genotypes I and II cocirculate in an endemic area of Yakutia, Russia // *J. Gen. Virol.* — 2001. — Vol. 82. — P. 2709–2718.
- Su C. W., Huang Y. H., Huo T. I., Shih H. H., Sheen I. J., Chen S. W., Lee P. C., Lee S. D., Wu J. C. Genotypes and viremia of hepatitis B and D viruses are associated with outcomes of chronic hepatitis D patients // *Gastroenterology*. — 2006 — Vol. 130. — P. 1625–1635.
- Gal F. L., Gault E., Ripault M. P., Serpaggi J., Trinchet J. C., Gordien E., Dény P. Eighth major clade for hepatitis delta virus // *Emerg Infect Dis.* — 2006. — Vol. 12. — P. 1447–1450.
- Yamashiro T., Nagayama K., Enomoto N., Watanabe H., Miyagi T., Nakasone H., Sakugawa H., Watanabe M. Quantitation of the level of hepatitis delta virus RNA in serum, by real-time polymerase chain reaction — and its possible correlation with the clinical stage of liver disease // *J. Infect. Dis.* — 2004. — Vol. 189. — P. 1151–1157.

10. Lee C. M., Bih F. J., Chao Y. C. et al. Evolution of hepatitis delta virus RNA during chronic infection // *Viriology*.— 1992.— Vol. 188, (1).— P. 265–273.
11. Le Gal F., Badur S., Hawajri N. A., Akyüz F., Kaymakoglu S., Brichler S., Zoulim F., Gordien E., Gault E., Dény P. Current hepatitis delta virus type 1 (HDV1) infections in central and eastern Turkey indicate a wide genetic diversity that is probably linked to different HDV1 origins // *Arch Virol*.— 2012.— Vol. 157.— P. 647–659.
12. Shirvani-Dastgerdi E., Amini-Bavil-Olyae S., Moayed Alavian S., Trautwein C., Tacke F. Comprehensive analysis of mutations in the hepatitis delta virus genome based on full-length sequencing in a nationwide cohort study and evolutionary pattern during disease progression // *Clinical Microbiology and Infection*.— 2014.— Available online.
13. Perveen S., Nasir M. I., Shahid S. M., Azhar A., Khan O. Y. Phylogenetic analysis of HDV isolates from HBsAg positive patients in Karachi, Pakistan // *Virology*.— 2012.— Vol. 9.— P. 162.

Поступила в редакцию: 07.05.2015 г.

Контакт: Останкова Юлия Владимировна, shenna1@yandex.ru

Сведения об авторах:

Останкова Юлия Владимировна — н.с. лаборатории молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии ФБУН НИИ имени Пастера, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14., 197101. shenna1@yandex.ru;

Ногойбаева Калыс Асанбековна — канд. мед. наук, доцент кафедры инфекционных болезней, дерматовенерологии, ВИЧ/СПИД Киргизского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации (КГМИ), Бишкек, Кыргызская Республика kalis35@mail.ru;

Семенов Александр Владимирович — канд. биол. наук, заведующий лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ имени Пастера, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики СЗГМУ им. Мечникова. Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14., 197101. alexvsemenov@yahoo.com;

Тотolian Арег Артемович — чл-корр. РАН, профессор, д-р мед. наук, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии ФБУН НИИ имени Пастера, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14., 197101. totolian@pasteurorg.ru.

Уважаемые коллеги!

Началась подготовка к проведению Международного конгресса

«ВИЧ-инфекция. Вопросы диагностики, лечения, профилактики, прогноза» (VII Виноградовские чтения)

Мероприятие будет проходить 14–15 октября 2015 года

по адресу: Санкт-Петербург, Московский проспект, 97А в отеле «Холлидей Инн — Московские Ворота»

Президент конгресса: академик РАН Н. А. Беляков

Сопредседатели: профессор М. Р. Бобкова (Москва, Россия), профессор Р. ДиКлементе (Атланта, США), д-р мед. наук В. В. Рассохин (Санкт-Петербург, Россия)

Ответственный секретарь оргкомитета: канд. мед. наук Т. Н. Виноградова

Основные темы для обсуждения на конгрессе:

- Эпидемиология и моделирование ВИЧ-инфекции;
- Эволюция и «старение» эпидемии;
- Направления профилактических мероприятий;
- Женщина, ребенок и ВИЧ;
- Сопутствующие заболевания, гепатиты;
- Оппортунистические инфекции;
- ВИЧ и туберкулез;
- Фармакотерапия при ВИЧ-инфекции;
- Группы людей с рискованным поведением (РКС, МСМ, ПИН);
- Психологические вопросы ВИЧ-инфекции;
- Поражение ЦНС;
- Миграционные процессы и ВИЧ;
- Организация службы ВИЧ-медицины;
- Преподавание социально-значимых инфекций;
- Лабораторная диагностика. Генотипирование и молекулярная биология;
- ВИЧ как чрезвычайная ситуация в стране.

Он-лайн регистрация будет открыта с 15 апреля 2014 года.

Подробная информация о мероприятии будет размещена на сайте: www.conf-hiv.ru, www.hiv-spb.ru.
Дополнительную информацию о мероприятии можно будет получить по телефону: 8 (812) 407-83-37.

АРХИВ

УДК 61.091+61.092

**СТРУКТУРА ИНСТИТУТА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ
В ПЕРИОД ВЕЛИКОЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВОЙНЫ
(АРХИВНЫЕ МАТЕРИАЛЫ)***Д. Э. Коржевский*

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

**THE STRUCTURE OF INSTITUTE OF EXPERIMENTAL MEDICINE
(LENINGRAD BRANCH OF ALL-UNION INSTITUTE OF EXPERIMENTAL
MEDICINE) DURING THE GREAT PATRIOTIC WAR
(ARCHIVAL MATERIALS)***D. E. Korzhevskii*

Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

© Д. Э. Коржевский, 2015 г.

Представленная статья посвящена 70-летию Победы нашей страны в Великой Отечественной войне. Она содержит не публиковавшиеся ранее сведения о структуре Института экспериментальной медицины и штате его сотрудников накануне войны, во время блокады Ленинграда и в период организации работ по восстановлению широкомасштабной деятельности научных отделов Института. В статье приведен поименный список научных сотрудников, работавших в Институте в 1942–1944 гг., составленный на основе документов, хранящихся в архиве ФГБНУ «ИЭМ».

Ключевые слова: ИЭМ, история медицины, Великая Отечественная война.

The present article is dedicated to the 70th anniversary of the victory of our country in the Great Patriotic War. It contains previously unpublished data on the structure of Institute of Experimental Medicine and information about the staff of the Institute before the war (the end of 1940), during the siege of Leningrad, and in the course of organization of the restoration of full-scale activities of the scientific departments of the Institute (1944). The list of names of scientists working at the Institute during 1942–1944 is presented based on documents filed in the archive of Institute of Experimental Medicine.

Key words: Institute of Experimental Medicine, history of medicine, Great Patriotic War.

Введение. В 2015 году Институт экспериментальной медицины отмечает свое 125-летие. В этом же году мы будем праздновать и 70-летие победы нашего народа в Великой Отечественной войне. В связи с этим уместно вспомнить и о малоизвестных страницах истории работы Института в период войны и блокады Ленинграда. В настоящее время опубликованы отдельные воспоминания о сотрудниках института, работавших в ИЭМ в осажденном Ленинграде [1]. Несомненно, их работа, как и работа Института в целом, во время блокады Ленинграда является подвигом, который в полной мере оценить невозможно. Немаловажной для сохранения научного потенциала нашей страны была и организация работ эвакуированных подразделений института. Данные об этих героических страницах истории

ИЭМ могут быть дополнены сведениями из архивов, однако до настоящего времени архивные документы этого периода не подвергались систематическому изучению и публикации.

Цель настоящей работы состояла в прояснении вопроса об изменениях организационной структуры Института и его штатного состава в наиболее тяжелый для жителей Ленинграда период 1941–1944 гг. с использованием данных, полученных из архивных документов.

Перед войной Институт экспериментальной медицины, который в этот период являлся Ленинградским филиалом Всесоюзного Института экспериментальной медицины (ВИЭМ) им. А. М. Горького (ЛФ ВИЭМ) [2], был крупнейшим центром фундаментальных медико-биологических исследований северо-запада

нашей страны. Если весь штат ВИЭМ со всеми его филиалами составил в 1940 году 2750 человек [2], то в Ленинградском филиале на 1 декабря 1940 года трудилось 703 человека (рис. 1). Таким образом, в нашем институте в 1940 году работало 25,6% сотрудников ВИЭМ. Незадолго до начала войны, согласно штатному расписанию, в составе института имелось 10 научных отделов и 8 самостоятельных научных и клинических лабораторий. Директором в это время, как и в период Великой Отечественной войны (до 10.03.1945 г.), был Сурен Хуршудович Мусаэлян (доктор медицинских наук с 1942 г.).

II. Отдел общей физиологии. Заведующий — профессор К. М. Быков. В штате отдела 51 человек. Помимо лаборатории К. М. Быкова (физиологическая лаборатория), в составе отдела имеется лаборатория газообмена (зав. А. Д. Слоним), электролаборатория (зав. В. Е. Делов), и клиническая группа (и. о. зав. В. М. Шаверин). В штат отдела входит и терапевтическая клиника (и. о. зав. А. Л. Мясников).

III. Отдел патофизиологии обмена веществ. Заведующий профессор И. А. Пигалев. В штате отдела состоят 35 сотрудников. Из штатных списков остается неясным, руководил ли И. А. Пигалев

СТАТИСТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ О СОТРУДНИКАХ ЛФ ВИЭМ
ПО СОСТОЯНИЮ НА 1/XII-1940 г.

Наименование должности.	Всего сотрудников	Мужчины	Женщины	Партийность			Возраст.			Стаж работы.			Кол-во работ.					По степени и званию.										Соц. происхождение.			Образование.		
				КП/с/л	ВКПМ	Беспарт.	До 30 л.	До 40 л.	От 40 и выше	До 5 л.	До 10 л.	До 20 л.	До 30 л. и старше.	До 5 л.	До 10 л.	До 20 л.	До 30 л. и старше.	Доктор	Кандид.	Без степени.	Професс.	Ст. науч. сотрудник.	Доцент	На высшей звания.	На высш. зв.	Крестьян.	Дворян.	Духовн. звания	Почетн. грамот.	Прочие	Высшее	Среднее	
Всего сотр.	703	304	399	57	45	601	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	256	153	294
Врачей	110	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Зав. отд.	11	11	-	1	-	10	-	1	10	-	-	4	7	-	-	-	11	11	-	11	-	-	-	7	1	1	1	-	1	-	-	-	
Зав. лаб.	32	25	7	3	-	29	-	8	24	-	-	16	16	-	2	3	27	24	8	19	6	4	3	16	6	5	-	2	3	-	-		
Н. с. Гр.	129	76	53	18	2	109	11	69	49	5	26	79	19	26	40	44	17	16	92	21	5	53	4	67	73	29	10	3	4	10	-	-	
Н. с. Пр.	68	18	50	2	13	53	22	36	10	23	24	19	2	32	6	-	1	-	7	61	-	1	-	67	45	12	6	1	1	3	-	-	
Н. т. с. Гр.	37	12	25	4	8	29	34	24	29	58	22	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	62	19	
Н. т. с. Пр.	43	2	41	-	2	41	20	16	12	38	7	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19	29	

ПРИМЕЧАНИЕ:

- В гр. Врачи и партийность указаны только основные сотрудники ЛФ ВИЭМ.
- Н. т. с. Гр. и Н. т. с. Пр. указан стаж работы только по ЛФ ВИЭМ.

ДИРЕКТОР ЛФ, ФИЛИАЛА ВИЭМ - *С. Мусаэлян* /Мусаэлян/

ЗАВ. КАДРАМИ - *Лавров* /Лавров/

Рис. 1. Статистические данные о сотрудниках Ленинградского филиала Всесоюзного института экспериментальной медицины по состоянию на 1 декабря 1940 г.

Для того чтобы иметь возможность сопоставить изменения в структуре и штатах Института в военное и мирное время, следует привести краткие сведения о научных подразделениях института и их составе за 1940 год по имеющимся архивным спискам [3]. Данные об отделах представлены в той последовательности, в которой они упоминаются в архивном документе. Данные о самостоятельных лабораториях вынесены после списка отделов, хотя в исходном архивном списке [3] они упомянуты, перемежаясь с отделами.

I. Отдел физиологии высшей нервной деятельности им. акад. И. П. Павлова. Заведующий — профессор П. С. Купалов. В штате отдела 38 человек. Помимо лаборатории П. С. Купалова (лаборатория условных рефлексов), в составе отдела имеются экспериментально-клиническая лаборатория (зав. А. О. Долин) и лаборатория гистофизиологии условных рефлексов (зав. И. С. Розенталь).

какой-либо лабораторией или осуществлял только общее руководство всем отделом. Судя по штатному расписанию института, такой вариант был возможен. В состав отдела входят лаборатория эндокринологии (зав. Е. Н. Сперанская), лаборатория ликворологии (зав. А. П. Фридман) и химическая лаборатория (зав. И. П. Кочнева). При отделе была и клиническая группа (зав. В. В. Чирковский), которая имела самостоятельный штат (8 сотрудников).

IV. Отдел патоморфологии. Заведующий — академик Н. Н. Аничков, заместитель директора по научной части. В штате отдела состоят 39 сотрудников и имеются три лаборатории — лаборатория патоморфологии обмена веществ (которой, по-видимому, заведовал сам руководитель отдела), лаборатория патоморфологии инфекционных заболеваний (зав. В. Д. Цинзерлинг) и лаборатория патофизиологии (зав. А. И. Левин).

V. Отдел экспериментальной онкологии. Заведующий отделом — профессор Л. М. Шабад, его заместитель — С. А. Нейфах (заместители заведующих присутствуют как отдельные штатные единицы в составе нескольких отделов). В штате отдела 20 сотрудников. Данные о структурных подразделениях в пределах данного отдела отсутствуют. В начале года при этом отделе состояла клиническая группа из 6 человек, которая к июлю 1940 г., по-видимому, была ликвидирована.

VI. Физико-биологический отдел. Заведующий отделом — профессор Г. Л. Френкель. В штате отдела состоят 39 сотрудников и имеются две лаборатории — физиологическая (зав. С. И. Гальперин) и экспериментальная (зав. К. П. Гольшева).

VII. Отдел биохимии. Заведующий отделом — профессор А. П. Конигов. В штате отдела состоят 24 сотрудника и имеется одна лаборатория — туберкулезная (зав. М. А. Линникова).

VIII. Отдел общей морфологии. Заведующий отделом — профессор А. А. Заварзин, его заместитель — профессор А. А. Браун. В штате отдела состоит 41 сотрудник. Имеются пять лабораторий — лаборатория цитологии (зав. Д. Н. Насонов), лаборатория общей и сравнительной гистологии (зав. Г. В. Ясвоин), лаборатория тканевых культур (зав. Н. Г. Хлопин), лаборатория эмбриологии (зав. П. П. Иванов) и экспериментально-клиническая лаборатория (зав. В. Г. Гаршин).

IX. Отдел экспериментальной биологии. Заведующий отделом — профессор А. Г. Гурвич. В штате отдела состоят 25 сотрудников и имеются две лаборатории. Одна из них не имеет специального названия (зав. А. И. Рабинерсон, специалист по коллоидной химии), другая — митогенетическая и раковая лаборатория (зав. Л. Д. Гурвич).

X. Отдел медицинской микробиологии. Заведующий отделом — профессор О. О. Гартох, заместитель директора по научной части. В штате отдела состоят 28 сотрудников и имеются две лаборатории — лаборатория естественного иммунитета (зав. М. И. Каневская) и лаборатория специммунитета (зав. М. А. Зеликина).

1. Лаборатория клинической патофизиологии сердечно-сосудистой системы. Заведующий лабораторией — профессор Г. Ф. Ланг; заместитель заведующего — Н. А. Толубеева. В лаборатории числятся 15 сотрудников.

2. Лаборатория нормальной и патологической морфологии нервной системы. Заведующий — профессор Б. С. Дойников. В штате лаборатории состоят 18 сотрудников.

3. Лаборатория по изучению лучей Гурвича. Заведующий — д-р мед. наук С. Н. Брайнес.

В штате этой самостоятельной лаборатории имеется подчиненная лаборатория патологии психозов (зав. проф. В. П. Осипов). Общий штат лаборатории по изучению лучей Гурвича и лаборатории патологии психозов состоит из 23 сотрудников.

4. Лаборатория по изучению патологии кожи. Заведующая лабораторией — профессор О. Н. Подвысоцкая. Штат лаборатории — 10 сотрудников.

5. Лаборатория экспериментальной патологии и терапии туберкулеза. Заведующий лабораторией — доцент А. Я. Цигельник. Штат лаборатории — 10 сотрудников.

6. Лаборатория по изучению патогенеза и терапии костного туберкулеза. Заведующий лабораторией — профессор П. Г. Корнев. Штат лаборатории — 11 сотрудников.

7. Лаборатория экспериментальной электродиагностики. Заведующий лабораторией — канд. мед. наук Е. А. Сельков. Штат лаборатории — 10 сотрудников. Судя по датам, с которых сотрудники этой лаборатории работают в институте, она была организована в начале 1940 г.

8. Электрофизиологическая лаборатория. Заведующий лабораторией — д-р биол. наук П. О. Макаров. Штат лаборатории — 4 сотрудника.

С началом войны ряд сотрудников Института призываются в действующую армию. Многие из сотрудников, не подлежащих призыву, движимые гражданским долгом, добровольно вступают в ряды Народного ополчения и увольняются из института. Так, добровольцами ушли на фронт В. П. Михайлов, Д. Н. Насонов, В. Я. Александров, Л. Н. Жинкин и многие другие. В блокадном Ленинграде уже к концу сентября 1941 года условия жизни и работы в институте ухудшаются настолько, что проведение экспериментальной работы становится невозможным (рис. 2). Штаты института сокращаются. На базе клиники института развертывается госпиталь на 300 коек (главврач — директор Института С. Х. Мусаэлян) [4]. Часть сотрудников института, оставшихся в Ленинграде, участвуют в обеспечении работы госпиталя, а некоторые из них переходят в его штат.

В ноябре 1941 года в дирекцию Института поступает распоряжение из Москвы из Народного комиссариата здравоохранения об «откомандировании в распоряжение ВИЭМ /центр/ в г. Томск» (т. е. эвакуации) ведущих сотрудников института [5]. В числе эвакуированных сотрудников был и заведующий отделом общей морфологии проф. А. А. Заварзин, который сразу по прибытии в Томск развернул широкую деятельность по организации научной работы своего отдела в условиях эвакуации [6]. Он смог привлечь к работе в Томске ряд ведущих сотрудников Отдела, оказав-

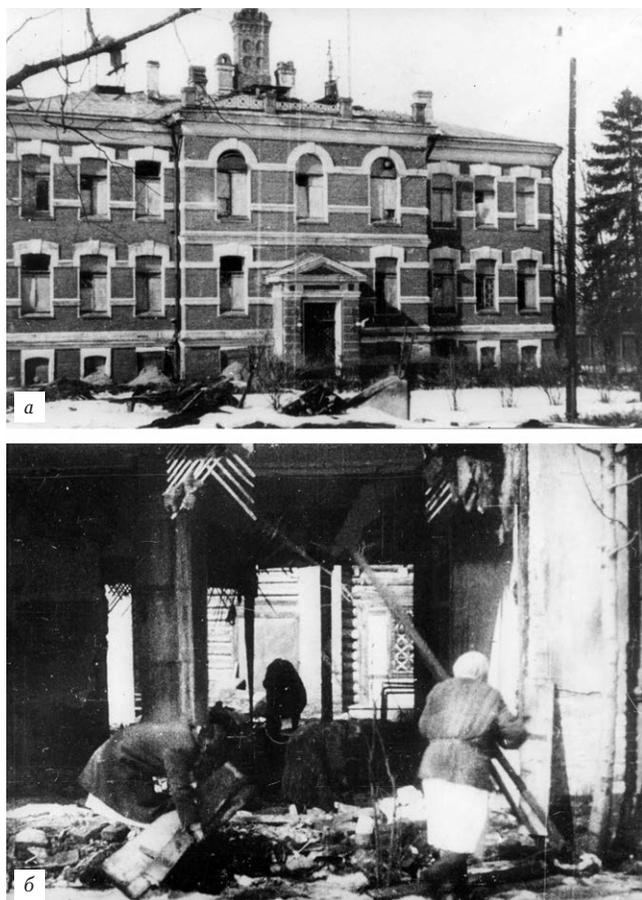


Рис. 2. Фотоматериалы из экспозиции музея Института экспериментальной медицины, иллюстрирующие состояние зданий ИЭМ в период блокады Ленинграда: а — Лондоновский корпус; б — одно из деревянных зданий на территории ИЭМ.

шихся за пределами осажденного Ленинграда. Среди них — проф. А. А. Браун, проф. П. Г. Светлов, которого А. А. Заварзин вызвал для заведывания лабораторией из Казани, а также демобилизовавшийся после ранения Л. Н. Жинкин [7]. К концу июля 1943 года томская группа ЛФ ВИЭМ состояла из 36 человек, большая часть из которых (22 человека) являлась сотрудниками вновь сформированного в эвакуации отдела общей морфологии [7].

В течение блокадного периода, согласно сухим сводкам, обнаруженным в архиве Института, число сотрудников уменьшается. На 9 апреля 1942 года в ЛФ ВИЭМ числилось 157 сотрудников из них 80 — по научной части [8]. К 1 июля 1943 г. в Институте остается всего 87 сотрудников, из них 48 — по научной части. Однако вскоре после снятия блокады Институт начинает оживать. Открываются новые лаборатории, возвращаются с фронта и после эвакуации старые сотрудники и принимаются на работу новые. Во второй половине 1944 года в Институте

работают уже 134 сотрудника, из них 60 — научные сотрудники, среди которых 26 докторов наук и 25 — кандидатов. Этот список не включает томскую группу академика А. А. Заварзина¹, которая состояла к этому моменту из 28 штатных единиц [9].

В архиве имеется подписанный С. Х. Мусаеяном машинописный документ, который отражает видение руководством Института его организационной структуры в послевоенный период и в котором кратко подводятся итоги деятельности Института в период Великой Отечественной войны. Он называется кратко — «СХЕМА». Вероятно, появление этого документа связано с образованием Академии медицинских наук и включением ЛФ ВИЭМ в состав ее учреждений в качестве самостоятельной организации. В этом же документе содержится и краткая характеристика наиболее известных ученых, работающих в Институте. Часть этого документа, непосредственно касающегося цели данной статьи, следует привести дословно.

1. Название Института — Институт Экспериментальной Медицины Академии Медицинских Наук СССР.

2. Профиль Института — Медико-биологические исследования.

3. Основные задачи — Экспериментальная разработка проблем теоретической медицины.

4. Очередная проблематика Института — Физиология и патология высшей нервной деятельности; функциональные взаимоотношения между корой головного мозга и внутренними органами; эволюционная динамика клеточных и тканевых систем; патоморфология, микробиология и иммунология инфекционных заболеваний; гипертоническая болезнь; заживление ран.

5. Какие работы закончены за время Великой Отечественной войны — 1. Цикл работ по проблеме алиментарной дистрофии: патология сердечно-сосудистой системы, основной обмен, белковый, углеводный и жировой обмен, патология артерий и др. (16 работ). 2. Цикл работ по проблеме остеомиелита и заживления ран: патогенез и лечение длительно незаживающих ран, роль нервной системы при этих заболеваниях (18 работ). 3. Работы по проблеме гипертонической болезни и другим вопросам: отморожения, характеристике эндотоксинов и др. (16 работ).

6. Структура института

І. ОТДЕЛ ФИЗИОЛОГИИ им. Павлова

Лаборатория физиологии высшей нервной деятельности

Лаборатория условных рефлексов

¹Профессор А. А. Заварзин в сентябре 1943 года был избран действительным членом АН СССР.

Клиническая группа

Виварий

II. ОТДЕЛ ОБЩЕЙ МОРФОЛОГИИ

Лаборатория сравнительной гистологии

Лаборатория динамики развития

Лаборатория цитологии

Лаборатория общей и сравнительной патологии

Лаборатория сравнительной эмбриологии

III. ОТДЕЛ ОБЩЕЙ ФИЗИОЛОГИИ

Электрофизиологическая лаборатория

Лаборатория физиологии газообмена

Клиническая группа

IV. ОТДЕЛ ПАТОЛОГИИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

им. Лондона

Лаборатория патофизиологии обмена веществ

Химическая лаборатория

Лаборатория эндокринологии

Лаборатория по изучению ОБ

Клиническая группа

V. ОТДЕЛ МИКРОБИОЛОГИИ

Лаборатория естественного иммунитета

Лаборатория специммунитета

Заготовка сред

Клиническая группа

VI. ОТДЕЛ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ

МОРФОЛОГИИ

Лаборатория патоморфологии обмена веществ

Лаборатория патоморфологии инфекционных болезней

Лаборатория патофизиологии

Лаборатория нормальной и патологической морфологии нервной системы

НАУЧНАЯ ЧАСТЬ

АДМИНИСТРАТИВНО-ХОЗЯЙСТВЕННАЯ ЧАСТЬ...

9. Характеристика отдельных работников:

Зав. Отделом Физиологии им. Павлова — Петр Степанович Купалов — ЗДН, профессор, докт. мед. наук. Являясь одним из ближайших сотрудников И. П. Павлова и его преемником по заведыванию Отделом Физиологии, продолжает разрабатывать основные проблемы Павловского учения о высшей нервной деятельности...

Зав. Отделом патологии обмена веществ — Иван Александрович Пигалев — профессор, доктор медицинских наук. Изучая влияние нервной системы на обмен веществ, продолжает развивать работы Е. С. Лондона и расширять область применения ангиостомического метода введением новых методических приемов. Значительный цикл работ посвящен вопросам оборонного значения /БОВ/.

Зав. Отделом патологической анатомии — Николай Николаевич Аничков — действительный

член Академии Наук СССР и Академии Медицинских Наук СССР, ЗДН, профессор, доктор мед. наук. Один из крупнейших ученых в области патологической анатомии, создавший новое направление в изучении атеросклероза. Лауреат Сталинской премии.

Зав. отделом общей морфологии — Алексей Алексеевич Заварзин — действительный член Академии Наук СССР, профессор, д-р биологических наук. Один из крупнейших ученых в области гистологии и эволюционной морфологии, выдвинувший ряд новых концепций широкого значения. Лауреат Сталинской премии...

Зав. химической лабораторией — Нина Павловна Кочнева — профессор, доктор мед. наук. Ближайшая сотрудница Е. С. Лондона и продолжательница его работ в области ангио- и органостомии. Автор многочисленных /около 100/ работ по вопросам интермедиарного обмена, эндокринологии, ферментологии.

Зав. лабораторией патофизиологии инфекционных болезней — Владимир Георгиевич Гаршин — профессор, доктор мед. наук. Крупный специалист в области патологической анатомии. Основные проблемы его исследований относятся к атипическим разрастаниям эпителия и взаимоотношениям тканей в воспалительном процессе.

Таким образом, в структуре обновленного Института планировалось восстановить всего 6 научных отделов вместо 10, бывших в структуре Института в довоенный период. Очевидно, что изменения в структуре института задумывались с учетом большей медицинской направленности исследований, необходимость которой стала очевидной в период Великой Отечественной войны. Ядром же фундаментальных исследований в Институте должен был стать отдел общей морфологии под руководством академика А. А. Заварзина — ведущего специалиста нашей страны в области общей и сравнительной гистологии. Однако этим планам не суждено было осуществиться в полной мере. С. Х. Мусаэлян был снят с поста директора Института в марте 1945 года, а вскоре (25 июля) в возрасте 59 лет скоропостижно скончался академик А. А. Заварзин [6]. К сожалению, он не успел воплотить в жизнь свои грандиозные замыслы по реорганизации отечественной биологии и фундаментальной медицины.

В качестве заключения необходимо отметить, что в годы Великой Отечественной войны сотрудники нашего института проявили мужество и героизм, защищая свой родной город от врага. В осажденном Ленинграде в Институте велась интенсивная научная и клиническая работа в интересах фронта. В тылу,

в эвакуации закладывались основы для послевоенного расцвета этого уникального научного учреждения: Императорского Института экспериментальной медицины — ЛФ ВИЭМ — ИЭМ АМН СССР — ФГБНУ «ИЭМ». Институт, основанный в конце XIX века в Российской Империи, выдержал все перемены и несмотря ни на революционные бури, ни на блокадные лишения, ни на многие сложности послевоенного периода и последующих лет, неизменно сохранял ведущие позиции во многих отраслях отечественной фундаментальной медицины. Все это

оказалось возможным только благодаря самоотверженному труду сотрудников Института, память о которых с любовью хранят ученики непосредственных участников тех великих событий, а скупые строчки подлинных документов из архива ИЭМ всегда помогут желающим вспомнить и восстановить исторические факты прошлых лет.

Благодаря сохранившимся в архиве ИЭМ документам, научные сотрудники, работавшие в Институте во время Великой Отечественной войны в 1942–1944 годах, могут быть перечислены поименно.

**Алфавитный список научных сотрудников ИЭМ по состоянию на осень 1944 года
(с дополнениями из списка 1942 года)**

№	Фамилия, имя отчество	С какого времени работает в Институте	Ученое звание	Наличие в списках 1942 г.
1	2	3	4	5
1	Аветикян Барсег Георгиевич	1940	Канд. мед. наук 1937	+
2	Аничков Николай Николаевич	1920	Д-р мед. наук 1912	
3	Ариель Моисей Борухович*	1933	Д-р мед. наук	+
4	Бабкова Анна Андреевна	1933	Д-р мед. наук 1941	
5	Бекерман Лазарь Самуилович	1943		
6	Беленков Никита Юрьевич	1944		
7	Беньяш Александр Моисеевич*	1940		+
8	Биллинг Евгения Соломоновна*	1932	Канд. наук	+
9	Букатина Антонина Александровна*	1938		+
10	Быков Константин Михайлович	1921	Д-р мед. наук 1934	
11	Вальдман Алиса Александровна	1934	Д-р мед. наук 1941	
12	Волкова Капитолина Григорьевна	1928	Д-р мед. наук 1935	+
13	Владимирова Елизавета Александровна	1925	Д-р мед. наук 1940	+
14	Вишевская Ольга Павловна	1939		
15	Виноградова Милица Ивановна	1938		+
16	Воронина Евгения Васильевна	1930	Канд. мед. наук 1935	
17	Гаршин Владимир Георгиевич	1940	Д-р мед. наук 1935	+
18	Гротель Давид Маркович		Д-р мед. наук	+
19	Геликонова Варвара Сергеевна	1934	Канд. мед. наук 1936	+
20	Гордон Елена Абрамовна	1934		+
21	Грекова Наталия Ивановна	1934	Канд. биол. наук 1942	
22	Дойников Борис Семенович	1931	Д-р мед. наук 1934	
23	Делов Всеволод Ефремович	1934	Канд. биол. наук 1938	+
24	Зеликина Мэри Акимовна	1923	Канд. мед. наук 1936	
25	Июффе Владимир Ильич	1940	Д-р мед. наук 1935	+
26	Каневская Марияна Иосифовна	1931	Канд. мед. наук 1936	+
27	Карташов Архип Иванович*	1933	Канд. наук	+
28	Киро Цецилия Моисеевна	1937	Канд. биол. наук 1941	
29	Клещев Сергей Васильевич*	1940		+
30	Кочнева Нина Павловна	1912	Д-р мед. наук 1935	+
31	Корнев Петр Георгиевич	1933	Д-р мед. наук	+
32	Коростелева Тамара Александровна*	1938		+

Окончание списка

1	2	3	4	5
33	Крыжановская Лидия Ивановна*	1925	Канд. наук	+
34	Кустря Борис Дмитриевич	1938	Канд. биол. наук 1940	+
35	Купалов Петр Степанович	1935	Д-р мед. наук 1940	
36	Курковский Виталий Павлович	1932	Д-р мед. наук 1935	
37	Захарьевская Мария Алексеевна	1933	Д-р мед. наук 1942	
38	Малеева Зоя Варфоломеевна	1938	Канд. биол. наук 1944	+
31	Мартинсон Эдуард Эдуардович	1940	Д-р мед. наук 1939	+
39	Меркулева Надежда Яковлевна	1942		+
40	Метрикина Р. М.*	1941?		+
41	Молотков Алексей Гаврилович	1931	Д-р мед. наук 1935	+
42	Мусаэлян Сурен Хуршудович	1937	Д-р мед. наук 1942	+
43	Науменко Андрей Иванович	1944	Канд. мед. наук 1940	
44	Павлова Вера Ивановна	1933	Канд. биол. наук 1935	+
45	Пигалев Иван Александрович	1940	Д-р мед. наук 1935	+
46	Попель Лариса Васильевна	1935	Канд. биол. наук 1937	+
47	Петрова Евлампия Григорьевна	1935		+
48	Пономарева Юлия Николаева	1932	Канд. биол. наук 1935	+
49	Попова Татьяна Владимировна	1935	Канд. биол. наук 1940	+
50	Ольнянская Регина Павловна	1933	Канд. биол. наук 1935	+
51	Розенталь Клара Михайловна	1940	Канд. мед. наук 1941	
52	Риккль Анна Викентьевна	1934	Д-р наук 1940	
53	Савченко Николай Сергеевич*	1933	Канд. наук	+
54	Семенова-Тяньшанская Вера Викторовна	1934	Канд. мед. наук 1938	
55	Синицына Татьяна Александровна	1944		
56	Симакова Татьяна Леонидовна	1939	Канд. геол.-минер. наук 1938	
57	Стожаров Борис Иванович	1933	Канд. биол. наук 1936	+
58	Сперанская Екатерина Николаевна	1925	Д-р мед. наук 1935	+
59	Татарский Владимир Викторович*	1932		+
60	Ушаков Василий Гаврилович	1891	Д-р мед. наук 1934	+
61	Ушинская Ольга Федоровна	1933		+
62	Филистович Валентина Ивановна	1944	Канд. биол. наук 1939	
63	Федоров Владимир Константинович	1929	Д-р мед. наук 1943	+
64	Хлопина Иоанна Дмитриевна	1938	Канд. мед. наук 1944	
65	Хлопин Николай Григорьевич	1932	Д-р биол. наук	
66	Цинзерлинг Всеволод Дмитриевич*		Д-р мед. наук	+
67	Чекановская Ольга Витольдовна	1934	Канд. биол. наук 1935	+
68	Черниговский Владимир Николаевич	1937	Д-р мед. наук	
69	Штробиндер Мария Фердинандовна*	1920	Канд. наук	+
70	Яковлева Вера Вячеславовна	1923	Д-р мед. наук 1938	+
71	Яковлева Екатерина Александровна	1935	Канд. мед. наук 1938	+
72	Яковлев Всеволод Петрович	1938		+
73	Якубов Сергей Александрович*	1934		+

* В списке 1944 г. отсутствует, присутствует только в списке 1942 года.

Автор благодарит Ю. П. Голикова (ведущего научного сотрудника Музея Института экспериментальной медицины), Т. А. Смирнову (заведующую

библиотекой ФГБНУ «ИЭМ») и О. А. Егорову (заведующую архивом ФГБНУ «ИЭМ») за помощь в подборе материалов по истории Института.

Литература

1. Михайлов В. П., Сопова Т. Л. Творческий путь В. Г. Гаршина и его деятельность в период блокады Ленинграда. Труды ленинградского научного общества патологоанатомов (протоколы научных заседаний за 1977 г.).— 1978.— Вып. XIX.— С.72–78.
2. Материалы к истории всесоюзного института экспериментальной медицины. Т. 1 / под ред. К. М. Быкова, И. П. Разенкова, Н. И. Проппер-Гращенко, С. Х. Мусалян, Д. З. Комиссарчук; Наркомздрав СССР.— М.: МедГиз, 1941.— С. 5–19.
3. Архив ИЭМ. Всесоюзный Институт Экспериментальной Медицины Лен. Фил. им. А. М. Горького, отдел кадров. Список личного состава института. Дело № 190, л. 73
4. Голиков Ю. П., Мазинг Ю. А. От директора к директору // Институт экспериментальной медицины на рубеже тысячелетий. Достижения в области биологии и медицины.— СПб.: Наука, 2000.— С. 7–37.
5. Архив ИЭМ. Всесоюзный Институт Экспериментальной Медицины Лен. Фил. им. А. М. Горького, управление делами. Приказы по личному составу Лен. Филиала ВИЭМ 1941 год № № 134–176. Дело № 207.
6. Академик Алексей Алексеевич Заварзин. Научно-биографический очерк (Составители: А. А. Заварзин, В. А. Отеллин).— М.: Наука, 1994.— 160 с., ил.— («Ученые России. Очерки, воспоминания, материалы»).
7. Архив ИЭМ. Всесоюзный Институт Экспериментальной Медицины Лен. Фил. им. А. М. Горького, г. Томск, управление делами. Приказы и распоряжения по Томской группе Лен. Филиала ВИЭМ № № 57–113 за 1943 г. Дело № 219.
8. Архив ИЭМ. Всесоюзный Институт Экспериментальной Медицины Лен. Фил. им. А. М. Горького, отдел кадров. Список личного состава института на 9.04.1942 г. Дело № 216, л. 6.
9. Архив ИЭМ. Всесоюзный Институт Экспериментальной Медицины Лен. Фил. им. А. М. Горького, отдел кадров. Список научных сотрудников и схема института. 1944. Дело № 227, л. 6.

Поступила в редакцию: 23.03.2015 г.

Контакт: Коржевский Дмитрий Эдуардович, dek2@yandex.ru

Сведения об авторе:

Коржевский Дмитрий Эдуардович — д-р мед. наук, заведующий лабораторией функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии, Института экспериментальной медицины. Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12., тел. 234-24-38, dek2@yandex.ru, iemetcom@yandex.ru

Наши подписные индексы:

Агентство «Роспечать» — **57999**

Объединенный каталог «Пресса России» — **42190**

Уважаемые читатели
«Медицинского академического журнала»!

Сообщаем, что открыта подписка на первое полугодие 2015 года.

Наши подписные индексы:
Агентство «Роспечать» — **57999**
Объединенный каталог «Пресса России» — **42190**

Периодичность — 4 номера в год.

Для подписки можно воспользоваться бланком.

		Министерство связи Российской Федерации		на газету журнал		57999 (индекс издания)					
		АБОНЕМЕНТ		Медицинский							
		(наименование издания)		Количество комплектов:							
		академический журнал		на 201__ год по месяцам							
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
X	X		X	X		X	X		X	X	
Куда		(почтовый индекс)		(адрес)							
Кому		(фамилия, инициалы)									

				на газету журнал		57999 (индекс издания)					
		ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА		Медицинский академический журнал							
		(наименование издания)		Стоимость		Количество комплектов:					
		пв		место		лит-тер					
		подписки		_____ руб. _____ коп.		Количество комплектов:					
		пере-адресовки		_____ руб. _____ коп.							
		на 201__ год по месяцам									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
X	X		X	X		X	X		X	X	
Куда		(почтовый индекс)		(адрес)							
Кому		(фамилия, инициалы)									

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

1. Статьи для публикации должны быть написаны на русском языке, иметь реферат (резюме), ключевые слова (3–4) на русском и английском языках.
2. Статьи представляются в редакцию на электронных и бумажных носителях. Если у автора есть затруднения с пересылкой статьи по почте, предоставление материала возможно в электронном виде. Все страницы должны быть пронумерованы от первой до последней страницы, без пропусков и литерных добавлений (например, 2а и т. п.).
3. Объем статьи не должен превышать:
 - 3.1. Передовая статья, обзор, лекция — 25 страниц;
 - 3.2. Оригинальная статья — 15 страниц;
 - 3.3. Рекомендации для врачей — 5 страниц;
 - 3.4. Рецензии, информация, хроника — 3 страницы.
4. Статья должна иметь следующие разделы:
 - 4.1. Титульный лист — указываются название статьи, инициалы и фамилии авторов, полное название учреждения, город на русском и английском языках. Титульный лист должен быть подписан всеми авторами.
 - 4.2. Резюме — до 1500 знаков, отражает цель, основные методы исследований, важнейшие результаты.
 - 4.3. Основной текст должен включать в себя следующие разделы, расположенные в установленном порядке:
 - 4.3.1. Введение;
 - 4.3.2. Материалы и методы исследования — обязательно указываются сведения о статистической обработке экспериментального или клинического материала;
 - 4.3.3. Результаты и их обсуждение;
 - 4.3.4. Выводы;
 - 4.3.5. Литература.
5. Каждая таблица должна иметь номер и название. Рисунки, графики, схемы должны быть черно-белыми с различимой штриховкой, выполнены в электронном (отдельными файлами с сохранением возможности редактирования) и бумажном вариантах отдельно от текста, а также иметь подрисовочные подписи без сокращений и дублироваться в тексте. При включении в публикацию растровой графики (сканированных, цифровых снимков, снимков с экрана мониторов и т. п.) предпочтение отдается рисункам с размером меньшей стороны не менее 5 см (640 пикселей), в форматах pdf, tiff, jpeg (максимальное качество).
6. Библиографический список.
 - 6.1. Библиографические описания источников располагают в порядке упоминания их в тексте статьи и нумеруют арабскими цифрами.
 - 6.2. В лекции можно давать список рекомендуемой литературы, и тогда в тексте ссылаться на источники не обязательно.
 - 6.3. Библиографический список оформляют в соответствии с действующим ГОСТом, указываются все авторы цитируемых работ.
 - 6.4. Ссылки на цитируемые работы в тексте дают в виде порядковых номеров, заключенных в квадратные скобки. Не следует включать в список литературы диссертации.
 - 6.5. Примеры:
 1. Ткаченко Б. И. Физиология человека. — СПб.: Наука, 2000. — 400 с.
 2. Шабанов П. Д. Механизмы лекарственной зависимости // Мед. акад. вестн. — 2001. — Т. I, № 1. — С. 27–35.
 3. Лебедев А. А. Поведенческие эффекты алаптида у крыс-изолянтов // Эмоциональное поведение / Под ред. Е. С. Петрова. — СПб.: Питер, 2000. — С. 56–78.
7. Данные об авторах статьи должны включать следующие сведения: фамилия, имя, отчество, место работы с указанием города и страны, адрес для переписки и номер телефона для связи, e-mail.
8. Все термины, употребляемые в статье, должны строго соответствовать действующим номенклатурам (анатомической, гистологической и др.), названия лекарственных средств — Государственной Фармакопее, единицы физических величин — системе единиц СИ.
9. 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.
10. Авторское право на конкретную статью принадлежит авторам статьи, что отмечается знаком ©. За издательством остается право на оформление, издание, распространение и доведение до всеобщего сведения публикаций, а также включение журнала в различные базы данных и информационные системы. При перепечатке статьи или ее части ссылка на журнал обязательна.
11. Редакция высылает авторам 1 копию журнала, в котором опубликована статья.
12. Редакция не выплачивает гонорара за статьи и не взимает плату за опубликование рукописей.
13. Журнал публикует рекламу по профилю журнала в виде отдельных рекламных модулей, 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.
14. Материалы следует направлять ответственному секретарю Александру Валентиновичу Дмитриеву. Адрес: Санкт-Петербург, 197022, Каменноостровский пр., д. 71, СЗО РАМН, электронная почта: medicalacfdemicjournal@gmail.com, admitriev10@yandex.ru.

Мы рады всем Вашим статьям, представленным в наш журнал!

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов опубликованных материалов.

Редакция не несет ответственности за последствия, связанные с неправильным использованием информации.

Медицинский академический журнал

Свидетельство о регистрации: ПИ № 2-4952 от 17.01.2001 г.

Редактор: Т. В. Руксина

Верстка: К. К. Ершов

Научная и образовательная деятельность.

- Повышение квалификации, стажировки, профессиональная переподготовка специалистов;
- Внедрение новых способов обучения;
- Организация и проведение научных исследований;
- Организация научно-технических и опытно-экспериментальных работ.

В 2009–2014 гг. организовано проведение образовательных проектов для медицинских работников и психологов из России, стран Восточной Европы и Центральной Азии по проблемам ВИЧ-инфекции: «Современные режимы антиретровирусной терапии»; «Обзор конференций CROI 2011»; «ВИЧ-инфекция и вирусные гепатиты. Современные достижения и клиническая практика»; «Лекарственная устойчивость ВИЧ и создание единой базы данных результатов генотипирования»; «Углубленное изучение ВААРТ»; «Применение культуральных сред Medicult и оборудования Research Instruments I в современных программах ВРТ»; «Поражение органов и систем при ВИЧ-инфекции», «КТ и МРТ в неврологии», «Рентгенология (рентгенодиагностика, КТ, МРТ)», цикл семинаров по профилактике ВИЧ-инфекции и других социально-значимых заболеваний среди студентов колледжа с интерактивными методами обучения и др.

Исследовательская деятельность.

БМОЦ было поддержано проведение важных фундаментальных, клинических и социально-значимых исследований, международных проектов: «Профилактика перинатального инфицирования детей, рожденных женщинами с ВИЧ-инфекцией»; «Роль медицинской сестры в формировании приверженности ВИЧ-инфицированного пациента к ВААРТ»; «Предотвращение распространения СПИДа среди женщин, находящихся в исправительных колониях»; «Поражение ЦНС при ВИЧ-инфекции»; «Употребление алкоголя и поведенческие риски передачи ВИЧ-инфекции среди молодых русских ВИЧ-инфицированных женщин» и др.

Организационная деятельность.

Профессиональная команда БМОЦ имеет большой опыт в организации и проведении мероприятий различного уровня, соответствующих современным международным требованиям.

Нами были организованы и проведены:

2009–2014 гг. — I–VI-е Виноградские чтения;

2011 г. — Международные симпозиумы «Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии», «Женщина, ребенок и ВИЧ»;

2012 г. — Научный симпозиум «Нейронауки — современной медицине: нейрофизиология, нейробиология, нейрохирургия, неврология, психиатрия»;

2013 г. — Научно-практический симпозиум «Фармакоэкономика ВААРТ», Международный круглый стол «НейроСПИД — от минимальной когнитивной дисфункции до грубых структурных изменений»;

Международный симпозиум «Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии»

2014 г. — Научно-практический симпозиум «ВИЧ и вирусные гепатиты», 2-ой Межрегиональный научно-практический симпозиум «ВИЧ и фармакоэкономика», Симпозиум Европейской ассоциации радиологов (ESR) «Радиология верхней конечности от А до Я».

Все мероприятия сопровождаются организацией и реализацией на высоком уровне всех логистических вопросов: транспортных, организации питания, досуга и культурно-туристических программ.

Издательская деятельность.

Журналы.

2009 г. — Основан и выпускается научно-практический рецензируемый журнал «ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии», рекомендован ВАК для публикации материалов диссертаций с 2010 г.;

2010 г. — Основан и выпускается научно-практический рецензируемый журнал «Лучевая диагностика и терапия»;

С 2012 г. — Выпускается официальное издание Северо-западного отделения Российской академии медицинских наук научно-практический рецензируемый журнал «Медицинский академический журнал».

Монографии, лекции, сборники.

2010 г. — «Вирус иммунодефицита человека — медицина»,

2011 г. — «ВИЧ — медико-социальная помощь», «Амбулаторная помощь людям, живущим с ВИЧ», «ВИЧ — осознание вселенской опасности или введение в проблему», «Головной мозг как мишень для ВИЧ», «Лучевые исследования головного мозга плода и новорожденного»,

2012 г. — «Женщина, ребенок и ВИЧ» «ВИЧ/СПИД сегодня и рядом» — рекомендации для людей, принимающих решения;

2013 г. — «Знакомство с комбинированной антиретровирусной терапией»

2012–2014 гг. — «ВИЧ/СПИД. Спутник специалиста», № 1–6; «Медицинский тематический архив» № 1–7.

Брошюры, буклеты, памятки и др. для специалистов, пациентов, населения.

**Более подробную информацию о нас Вы можете узнать:
по телефону +7 921 956-92-55; e-mail: bmocspb@gmail.com; <http://bmoc-spb.ru/>**



ПРОИЗВОДИТ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ
НА ОСНОВЕ СОБСТВЕННЫХ СУБСТАНЦИЙ



БЕТАЛЕЙКИН®

Рекомбинантный интерлейкин-1β человека

Применяется для лечения токсической лейкопении
в онкологии

Обладает радиозащитным, иммуностимулирующим
и противоинфекционным действиями

Применяется для лечения хронического гепатита С



ИНТЕРФЕРАЛЬ®

Рекомбинантный интерферон-альфа2b человека

Обладает противовирусной, противоопухолевой,
иммуномодулирующей активностью



ЭПОКРИН®

Рекомбинантный эритропоэтин человека

Стимулятор эритропоэза

Применяется для лечения анемии в клинике
внутренних болезней, онкологии, гематологии,
акушерстве и гинекологии, неонатологии,
хирургии

ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России
197110, С.-Петербург, ул. Пудожская, 7
Отдел маркетинга

Тел.: (812) 230-42-03; тел./факс: (812) 230-79-55
E-mail: mark@hpb-spb.com; www.hpb-spb.com