

СОДЕРЖАНИЕ

журнала "БИОМЕДИЦИНА", № 2, 2015 г.

Обзоры

М.К.Мамедов, А.А.Кадырова
О механизмах реализации терапевтического действия лекарственных препаратов, используемых для этиотропного лечения больных хроническим вирусным гепатитом С.....3

И.А.Мустафаев
Болезни мелких бронхов у детей.....9

Оригинальные статьи

Н.М.Нагиева, М.К.Мамедов, Т.Н.Мамедова, Р.К.Таги-заде, Р.А.Алиева
Иммунотропные эффекты трех различных комбинированных программ противовирусной терапии больных хроническим вирусным гепатитом С.....13

Э.М.Агаева, Ш.К.Зейналова, В.А.Нариманов
Иновационные методы молекулярной диагностики в медицине.....16

Н.Р.Алиева
Значимость патологии щитовидной железы в нарушении репродуктивной функции у женщин с бесплодием.....20

Н.М.Камилова, С.М. Исмаилова
Результаты лабораторно-функциональных методов исследования в диагностике папилломавирусной инфекции у беременных.....23

И.Т.Амирасланова, Л.А.Гидаятова, С.С.Джавадов
Состояние первичной антибиотикорезистентности *Helicobacter pylori* в Азербайджане.....28

Г.А.Исмаилова
Сахарный диабет в сочетании с метаболическим синдромом - одна из основных проблем современной эндокринологии.....33

А.Р.Агасиев
Сравнительная оценка фактического и стандартного объема врачебной помощи рекреантам.....36

CONTENTS

"BIOMEDICINE" journal, No 2, 2015

Reviews

M.Mamedov, A.Kadyrova
About realization mechanisms of therapeutic action of drugs applied for etiotropic treatment of patients with chronic viral hepatitis C.....3

I.Mustafayev
Diseases of small bronchus at children9

Original articles

N.Nagiyeva, M.Mamedov, T.Mamedova, R.Tagi-zadeh, R.Aliyeva
Immunotropic effects of three different combined programmes of hepatitis C virus' course antiviral treatment of chronic hepatitis C patients.....13

E.Agayeva, Sh.Zeynalova, V.Narimanov
Innovative methods of molecular diagnostics in medicine.....16

N.Aliyeva
The significance role of thyroid pathologies in reproductive system injuries of women with infertility.....20

N.Kamilova, S.Ismaylova
Results of laboratory and functional research methods in the diagnosis of infection in pregnant women with papillomavirus.....23

I.Amiraslanova, L.Hidayatova, S.Javadov
The condition of the primary antibiotic resistance *Helicobacter pylori* in Azerbaijan.....28

G.Ismailova
Diabetes mellitus in combination with metabolic syndrome-one of the main problem of modern endocrinology.....33

A.Agasiyev
Comparative assessment of the actual and standard volume of medical assistance to recreants.....36

ОБЗОРЫ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

О механизмах реализации терапевтического действия лекарственных препаратов, используемых для этиотропного лечения больных хроническим вирусным гепатитом С

М.К.Мамедов, А.А.Кадырова

Национальный центр онкологии, Азербайджанский медицинский университет, г.Баку

В национальных фармакологических формулярах ряда стран и, в том числе, в формуляре FDA США среди лекарственных препаратов, применяемых для этиотропного лечения больных хроническим гепатитом С (ХГС), и ныне продолжают фигурировать 4 группы лекарственных препаратов: рекомбинантные и пегилированные альфа-интерфероны, рибавирин и противовирусные препараты прямого действия. Вместе с тем, согласно современным рекомендациям, препараты ни одной из этих групп не должны использоваться изолированно - преимущество однозначно отдается одновременному применению двух или трех (и даже четырех) препаратов с разными механизмами противовирусного действия [1].

В настоящее время, когда число используемых комбинированных программ лечения больных ХГС продолжает возрастать, достаточно глубокое понимание достоинств и недостатков каждой из таких комбинации противовирусных препаратов становится возможным лишь при условии наличия у врача четких представлений о молекулярных особенностях действия и иных свойствах каждого из компонентов этих программ.

Именно это обстоятельство побудило нас в данном сообщении, адресованном практикующим врачам-терапевтам, кратко охарактеризовать важнейшие особенности реализации противовирусной активности основных групп лекарственных препаратов, в настоящее время применяемых для лечения больных ХГС. Возможно, что эти сведения помогут врачам глубже осмыслить стратегию поиска и тактику практического применения таких препаратов при лечении больных ХГС.

РЕКОМБИНАНТНЫЕ ИНТЕРФЕРОНЫ (р-

ИФН). Первые лекарственные препараты на основе р-ИФН появились только в середине 80-х гг XX в: "интрон А" фирмы Shering-Plough (США) в 1984 г и "роферон-А" компании Hoffmann La Roch (Швейцария) в 1985 г.

Интересно, что оба эти препарата были получены в помощью комплекса одних и тех же методов, используемых для клонирования человеческих генов альфа-интерферонов (ИФН) в бактериях. Эти методы были разработаны в США биохимиком Сиднеем Песткой и генетиком Менахимом Рубинштейном и защищены несколькими патентами США, полученными авторами и компаниями еще в начале 80-х гг [2].

Первоначально эти препараты нашли применение для лечения больных хроническим гепатитом В, а для лечения больных ХГС стали широко применяться ХГС с 1989 г, т.е. почти сразу после разработки методов диагностики этого заболевания и в то время оказались единственными лекарственными препаратами, использование которых обеспечило реальный терапевтический эффект, как минимум, у определенной части этих больных [3].

Как известно, действующим началом этих препаратов являлись молекулы ИФН, синтезированные в бактериях на матрицах соответствующих генов человека, но структурно идентичные молекулам нативного ИФН, синтезируемого в клетках человека. Иначе говоря, р-ИФН представляют собой функционально активные полипептиды, состоящие из 165 аминокислот и способные, как и натуральные ИФН, определенным образом действуют на жизнедеятельность клеток, формируя в них естественную резистентность к вирусным инфекциям [4].

Вместе с тем, действие ИФН на клетки осуществляется посредством их специфических

рецепторов 1FNAR - гетеромерных мембранных белков, по организации напоминающих рецепторы инсулина и других пептидных гормонов. При связывании наружных (внеклеточных) доменов этих рецепторов с активными центрами молекул ИФН их внутриклеточные домены могут обретают протеинкиназную (тирозинфосфокиназную) активность, которая по цепочке "передается" внутриклеточным белкам по направлению к ядру [7].

Введенные в организм молекулы р-ИФН достигают своих рецепторов, расположенных на поверхности клеток, включая гепатоциты. Это знаменует начало процесса внутриклеточной передачи импульса, который с рецептора первоначально переносится на два ассоциированных с ним внутриклеточных белка - тирозинкиназы Jak1 и Tyc2. Они фосфорилируются и активируют последующие звенья трансцитоплазматической передачи сигнала по пути Jak-STAT к активаторам факторов транскрипции STAT1 и STAT2. Последние переносятся в ядро, где специфически связываются с промоторными элементами нескольких десятков ИФН-стимулируемых генов, что ведет к функциональной активации этих генов [6].

В итоге в клетке на матрицах упомянутых генов синтезируются особые эффекторные белки, самыми известными из которых являются: 2'5' олигоаденилатсинтетаза, Мх-белки и протеинкиназа R, активируемая двуцепочечной РНК. Они влияют на режимы апоптоз инфицированной клетки, метаболизм липидов, синтез и деградацию белков и реакцию клетки на чужеродные молекулы и, в итоге, обеспечивают, с одной стороны, противовирусную резистентность клеток (в форме снижения чувствительности к инфицированию вирусами) и торможение в них репродукции вирусов, а с другой стороны, активацию факторов иммунной системы и, в первую очередь, факторов врожденного иммунитета, которые принимают непосредственное участие в обеспечении противовирусной защиты организма [7].

ПЕГИЛИРОВАННЫЕ ИНТЕРФЕРОНЫ (ПЭГ-ИФН). Эти вещества были получены путем химического присоединения к молекулам р-ИФН полимерной монотонной цепи полиэтиленгликоля. Данный процесс осуществлялся по методу пегилирования белковых молекул, запатентованному в США еще в 1981 г Ф.Девисом и Э.Абуковским, основавшим компанию Enzon Inc., ставшую первой среди производителей пегилированных форм лекарственных препаратов [8].

Препараты ПЭГ-ИФН были созданы специалистами именно фирмы Энзон по заказу соответствующих фармацевтических компаний. Так, в 2000 г был получен "пегинтрон" запатентованный фирмами Shering-Plough / Enzon, а в 2001 г был получен "пегасис", также запатентованный фирмами Hoffmann La Roch / Enzon.

Благодаря модификации, препараты ПЭГ-ИФН обрели ряд существенных фармакокинетических и, частично, фармакодинамических отличий от препаратов р-ИФН. Перечисляя важнейшие из этих отличий, обеспечивших преимущества ПЭГ-ИФН, следует отметить: 1) более высокую концентрацию в крови и меньшую амплитуду ее колебаний; 2) значительно более продолжительный период полувыведения из-за сниженного клиренса; 3) большая резистентность к действию протеолитических и иных дезинтегрирующих факторов; 4) меньшая реактогенность и меньшие частота и выраженность некоторых проявлений побочного действия и 5) меньшие антигенность и иммуногенность [4].

Эти преимущества в итоге позволяют, снизив, по сравнению с препаратами р-ИФН, частоту введения ПЭГ-ИФН (и вероятность развития побочных эффектов, связанных с более частыми инъекциями), получать более высокий терапевтический эффект.

При этом, биологическое и, соответственно, фармакологическое действия препаратов ПЭГ-ИФН практически идентично таковому у препаратов рекомбинантного ИФН [7].

После подкожного введения пациенту препарата ПЭГ-ИФН молекула ИФН постепенно высвобождается из комплекса с полиэтиленгликолем и связывается с рецепторами. На дальнейших этапах процесс индукции противовирусных эффектов под действием препаратов ПЭГ-ИФН ничем не отличается от такового при использовании препаратов р-ИФН [5].

Вместе с тем, характеризуя практику применения препаратов ИФН вообще, для лечения больных ХГС, нельзя не отметить, что хотя ВГС считается вирусом, чувствительным к антивирусному действию ИФН, он, как и некоторые другие вирусы, способен "обходить" это действие - к настоящему времени идентифицирован целый ряд молекулярных механизмов, реализуемых в процессе взаимодействия ВГС с организмом и позволяющих вирусу, подавляя активность системы ИФН, "уклоняться" от протективного действия ИФН [6, 7].

Эта способность ВГС выражена по-разному у вирусом, принадлежащих к различным геноти-

пам и является максимальной у вируса 1-го генотипа. Надо подчеркнуть, что именно эта способность вируса предопределяет наибольшее число неудач противовирусной терапии, хотя они могут быть обусловлены и факторами, связанными с особенностями организма больного (с полом, возрастом, степень фиброза, наличием сопутствующих заболеваний и др.).

Наконец, надо иметь в виду, что препараты ИФН действительно действуют на иммунную систему и, в частности, принимают участие в: 1) стимуляции пролиферации и дифференцировки некоторых типов иммуноцитов; 2) стимуляции секреции и рецепции различных цитокинов и 3) регуляции экспрессии МНС класса II. Однако, этот компонент действия ИФН по-видимому не является решающим в терапии ХГС и играет лишь вспомогательную роль.

Таким образом, используемый для лечения ХГС препараты ИФН выступают как противовирусные средства широкого спектра действия, способные тормозить репродукцию вирусов в инфицированных клетках, а также обеспечивать резистентность интактных клеток к проникновению в них ВГС и, тем самым, обеспечивать отчетливый терапевтический эффект у большей части пациентов.

Тем не менее, применение препаратов ИФН для лечения больных ХГС, не обеспечивающее элиминации вируса у всех пациентов, с точки зрения воздействия на экспрессию вирусного генома не является достаточно обоснованной и не может считаться патогенетически адекватным [7]. Именно понимание этого момента послужило важнейшим идеологическим стимулом к поиску альтернативных методов лечения этого заболевания.

РИБАВИРИН (РВ). Это вещество, представляющее собой структурный аналог пуриновых нуклеозидов, было впервые синтезировано *de novo* в 1970 г Джозефом Витковским и Рональдом Роббинсом, работавшими в лабораториях американской фармацевтической компании ICN Pharmaceutical (позже ставшей Valeant Pharma) [8].

В 1972 г было выяснено, что РВ обладает выраженной противовирусной активностью, направленной против широкого спектра вирусных патогенов. Позже было установлено, что РВ высокочувствительны как ДНК-содержащие вирусы (особенно вирусы простого герпеса), так и РНК-содержащие вирусы (орто- и парамиксовирусы, реовирусы, вирусы геморрагических лихорадок - Ласса, Крымской и даже ретровирусы).

Устойчивыми к РВ оказались лишь отдельные ДНК-содержащие (вирусы опоясывающего лишая и коревой оспы) и РНК-содержащие вирусы (энтеровирусы и риновирусы).

Считается, что антивирусная активность РВ связана с его способностью проникать в инфицированные клетки и быстро фосфорилироваться внутриклеточной аденозинкиназой в моно-, ди- и трифосфаты рибавирина - именно эти метаболиты и, особенно последний, обладают выраженной противовирусной активностью. Они подавляют активность инозинмонофосфат-дегидрогеназы и снижают уровень внутриклеточного гуанозин-трифосфата (ГТФ) - это ведет к подавлению синтеза вирусной (но не клеточной) РНК и вирусспецифических белков и, в итоге, к подавлению репродукции вирусов (в силу высокой селективности действия, РВ мало влияет на синтез РНК в неинфицированных клетках) [9].

В начале 90-х гг установили, что к РВ чувствителен и ВГС - он приводит к подавлению репродукции ВГС как *In vitro*, так и *in vivo* - в последнем случае это проявляется в снижении вирусной нагрузки. Снижение вирусной нагрузки после приема РВ может продолжаться несколько месяцев (РВ выводится из организма очень медленно, а его следы могут выявляться даже через 3-4 месяца). Вместе с тем, даже длительный прием РВ не приводит к элиминации ВГС [2].

Лишь в 1995 г было доказано, что комбинируя инъекции препаратов р-ИФН с пероральным приемом РВ можно получить выраженный аддитивный эффект и за счет него ощутимо снизить частоту рецидивов заболевания и, в итоге, существенно повысить эффективность лечения больных ХГС. Позднее, уже в 1997 г применении комбинации РВ с р-ИФН обрело статус международного стандарта лечения ХГС. Соответственно, препараты ПЭГ-ИФН также стали использовать в комбинации с РВ [3].

Механизм действия РВ в отношении ВГС все еще не ясен и дискуссии по этому вопросу продолжают. Во всяком случае, сегодня обсуждаются пять гипотез: 1) допускается, что это действие связано с уже упоминавшейся выше способностью РВ снижать в клетках содержание ГТФ и дезоксигуанозинтрифосфатов; 2) не исключается прямое мутагенное действие РВ на вирусное потомство, которое утрачивает жизнеспособность; 3) будучи аналогом нуклеозидов, РВ способен выступать в роли "легкого" ингибитора вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы; 4) РВ может выступать в качестве синергиста обус-

ловленных действием ИФН внутриклеточных процессов, тормозящих репродукцию ВГС (известно, что ИФН усиливает фосфорилирование РВ) и 5) РВ обладает умеренно выраженным иммуномодулирующим действием и, в частности, способностью участвовать в усилении иммунного ответа, формируемого Т-хелперами 1-го типа [10, 11, 12].

Учитывая многообразие вариантов реализации протимбовирусного действия, можно предполагать, что РВ и в будущем не утратит своего значения в качестве одного из компонентов программ ПВТ больных ХГС. Более того, приняв во внимание существование его более активного и менее токсичного аналога - "вирамина" (тарибавирин), также синтезированного Дж.Витковским еще в 1973 г, можно считать, что в будущем место РВ в этих программах займет именно его более эффективный аналог [8].

ПРЕПАРАТЫ С ПРЯМЫМ ПРОТИВОВИРУСНЫМ ДЕЙСТВИЕМ (ППД). Как известно, направленный поиск потенциальных препаратов с таким механизмом противовирусного действия среди считался перспективным уже в начале текущего десятилетия [13]. При этом наиболее перспективными в фармакотерапевтическом отношении считались вещества, оказывающие ингибирующее действие на вирусные ферменты - протеазы и полимеразы [14, 15].

Высказано мнение о том, что на обнаружение и исследование свойств таких веществ потребовалось более десятилетия. Поэтому клиническое применение полученных на их основе лекарств началось лишь в 2011 г, когда было разрешено для лечения больных ХГС использовать первые 2 таблетированных препарата - боцепревир и телапревир, относящихся к группе ингибиторов вирусных протеаз [16]. Еще через год появился еще один препарат из группы ингибиторов вирусных протеаз - симепревир, более эффективный и более безопасный препарат, а вскоре - еще один препарат из этой же группы - паритопревир [17]. И наконец, выяснилось, что для лечения больных ХГС может использоваться еще один ингибитор протеазы - ритонавир, уже применяемый для лечения больных СПИД [18].

Кратко характеризуя значение вирусных протеаз в жизнедеятельности ВГС, отметим, что в основе экспрессии генома ВГС лежит "считывание" генетической информации с его РНК с одной открытой рамки [13]. В результате этого процесса образуется крупный вирусный полипептид, являющийся предшественником всех структурных и неструктурных белков этого

вируса. Последний в ходе процессинга, происходящего при прямом участии нескольких протеаз, "нарезается" на "зрелые" функционально активные структурные и неструктурные белки ВГС, что является необходимым условием для полноценной репродукции вируса [19].

Поскольку боцепревир и телапревир, связываются с ферментом и подавляют активность сериновой протеазы ВГС - ключевого фермента процессинга почти всех неструктурных белков ВГС (симепревир инактивирует протеазу NS2-4A, а паритопревир - сериновую протеазу NS3-4A), непрерывный прием этих препаратов ведет к быстрому подавлению репродукции вируса [13, 20].

Практически одновременно происходило клиническое изучение и нескольких препаратов из другой группы - ингибиторов РНК-зависимой РНК-полимеразы вируса, которые реализовывали противовирусную активность, блокируя репликацию вирусной РНК. Эти препараты условно разделяют на нуклеозидные (реализующие свое действие через субстраты фермента - нуклеозиды, из которых строится цепь вирусной РНК) и ненуклеозидные (воздействующие на разные аллостерические участки полимеразы) ингибиторы [21].

Наиболее перспективным препаратом из группы нуклеозидных ингибиторов оказался софосбувир, который, имея сходство с естественным субстратом полимеразы, связывается с активным центром фермента и встраивается в растущую цепь РНК, приводя к терминации ее синтеза. В силу консервативности структуры названного субстрата фермента, формирование резистентных штаммов ВГС при использовании этого препарата происходит достаточно редко.

Не менее интересными в клиническом отношении оказались и три препарата, из группы ненуклеозидных ингибиторов полимеразы: ледипасвир, даклатсавир и омбитасвир. Эти препараты также проявили высокую противовирусную активность, хотя при их использовании резистентные штаммы вируса возникают чаще, нежели при применении нуклеозидных ингибиторов полимеразы.

Касаясь механизмов действия названных препаратов, надо отметить, что оно направлено на подавление ферментативной активности неструктурного белка NS5A, важнейшей из функций которого является сборка репликативного комплекса ВГС. Поэтому, назначение препаратов, выступающих в роли ингибиторов белка NS5A, быстро подавляет репродукцию

вируса на стадии синтеза вирусной РНК de novo [21].

Надо подчеркнуть, что первоначально, ингибиторы как вирусных протеаз, так полимераз, рекомендовали использовать только в качестве дополнительного (3-го) компонента стандартной комбинированной программы, включавшей препарат ПЭГ-ИФН и РВ. Это было связано с опасениями по поводу возможности появления штаммов вирусов, резистентных к каждому из этих препаратов.

Этот подход позволил заметно повысить частоту регистрации элиминации ВГС из организма (в том числе, у лиц, лечение которых по стандартной программе успеха не имело) и заметно сократить продолжительность противовирусной терапии. Поэтому программы лечения, включавшие, наряду с препаратами ППД, и препараты ПЭГ-ИФН и РВ, заняли важное стратегическое место среди "новых" методов лечения [1, 22].

Вместе с тем, в ходе дальнейшего изучения препаратов ППД выяснилось, что достичь высокой терапевтической эффективности лечения можно и без применения препаратов ПЭГ-ИФН - путем комбинирования двух и более таблетированных препаратов ППД с разными механизмами антивирусного действия, например ингибиторов полимеразы и ингибиторов протеазы. Такие программы по эффективности не уступали программам, включавшим комбинаций препаратов ППД с препаратами ПЭГ-ИФН и РВ, что вероятно было обусловлено суммацией или потенцированием разного по механизму действия всех этих препаратов. В то же время, применение таких программ не привело к ощутимому повышению частоты возникновения штаммов ВГС, резистентных к лечению использованными препаратами [23].

Дальнейшее развитие этого принципа, направленного на элиминацию ВГС из организма путем одновременного селективного воздействия на разные этапы жизнедеятельности (т.е. репродукции) ВГС, привело к разработке новой стратегии этиотропной терапии ХГС, условно названной "таргетной" противовирусной терапией [24].

За минувшие три года неоспоримым фактом стало то, что эта стратегия оказалась весьма плодотворной и на ее основе был разработан целый ряд двух и многокомпонентных программ лечения больных ХГС. Возможность их применения в различных клинических ситуациях и у разных больных, сама по себе, заметно расширила реальные возможности фармакологического подавле-

ния репродукции ВГС и остановки обусловленного ею заболевания. Это дает вполне веские основания для надежды на то, что дальнейшее развитие этого направления уже в обозримом будущем позволит решить все важнейшие проблемы, связанные с лечением больных ХГС.

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO' Guidelines for the screening, care and treatment of person with hepatitis C infection. Geneva, 2014, 122 p.
2. Мамедов М.К., Шапиро Б.Я. Лечение трансфузионных вирусных гепатитов рекомбинантным альфа-интерфероном. Под ред. М.В. Невского. Ташкент: Юлдуз, 1999, 100 с.
3. Мамедов М.К., Керимов А.А. Современные подходы к этиопатогенетическому лечению трансфузионных вирусных гепатитов. // *Азерб. мед. Ж.*, 2002, N.2, с.95-98.
4. Мамедов М.К., Кадырова А.А. Интерфероны и их применение в клинической медицине. М.: Кристалл, 2005, 288 с.
5. Chevalie S., Pawloisky J. Interferon-based therapy of hepatitis C. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2007, v.59, p.1222-1241.
6. Randall R., Goodbourn S. Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and viral countermeasures. // *J. Gen. Virol.*, 2008, v.89 (part 1), p.1-47.
7. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств) М.: Геотар-Медиа, 2005, 356 с.
8. Textbook of drug design and discovery. Eds. E.De Clerk et al. NY: CRC Press, 2008, p.393-418;
9. Crotty S., Cameron C., Andrino R. Ribavirin antiviral mechanism of action: lethal mutagenesis? // *J. Molecular Biol.*, 2002, v.80, p.86-95;
10. Te H., Randall R., Jensen D. Mechanisms of action of ribavirin in the treatment of chronic hepatitis C. // *Gastroenterology & hepatology*, 2007, v.3, p.218-225;
11. Hofmann W., Herrmann R., Sarrazin C. et al. Ribavirin mode of action in chronic hepatitis C: from clinical use back to molecular mechanisms. // *Liver Intern.*, 2008, v.28, p.1332-1343;
12. Thomas E., Ghany M., Joke Ling T. The application and mechanisms of action of ribavirin in therapy of hepatitis C. // *Antiviral chemistry et chemotherapy*, 2012, v.23, p.1-12;
13. Hepatitis C virus. Eds. P. Karayiannis, J.Main, H.Thomas. London: International medical press, 2009, 210 p.;
14. Kwo P., Vinayek R. The therapeutic approaches for hepatitis C virus: protease inhibitors and polymerase inhibitors. // *Gut & Liver*, 2011, v.5, p.406-417.
15. Нагиева Н.М., Мамедов М.К. Применение лекарственных препаратов на основе ингибиторов вирусных ферментов, как возможность совершенствования этиотропной терапии больных вирусным гепатитом С. // *Соврем. достижения азерб. медицины*, 2013, N.1, с.52-54;
16. Мамедов М.К. Перспективы этиотропного лечения больных вирусным гепатитом С. // *Современные достижения азербайджанской медицины*, 2011, N.4. с.3-11
17. Pawlotsky J-M. New antiviral agents for hepatitis C. // *Biol. Rep.*, 2012, v.4, p.5-15;
18. Мамедов М.К. Развитие этиотропной терапии больных хроническим вирусным гепатитом С - успехи, разочарования и надежды. // *Соврем. достижения азерб. медицины*, 2014, N.2, с.3-13;
19. Львов Д.К., Шахгильдян И.В., Дерябин П.Г. Вирусный гепатит С. / *Руководство по вирусологии*. Под ред. Д.К.Львова. М: МИА, 2013, с.683-689;
20. Громова Н.И. Терапия хронического гепатита С: настоящее и будущее. // *Медицинская вирусология*, 2013, N.2, с.16-22;
21. Николаева Я.И., Сапронов Г.В. Вирус гепатита С: мишени

- для терапии и новые лекарственные препараты. // Вопр. вирусологии, 2012, N.5, с.10-15;
22. European Association for the study of the liver. EASL. Clinical practice guidelines: Management of hepatitis C virus infection. // J.Hepatology, 2014, v.69, p.393-420;
23. Мамедов М.К. Развитие этиотропной терапии больных хроническим вирусным гепатитом С - успехи, разочарования и надежды. // Соврем. достижения азерб. медицины, 2014, N.2, с.3-11;
24. Мамедов М.К. Таргетная терапия вирусного гепатита С: вчера, сегодня и завтра. // Биомедицина, 2015, N.1, с.3-8.

SUMMARY

About realization mechanisms of therapeutic action of drugs applicated for etiotropic treatment of patients with chronic viral hepatitis C

M.Mamedov, A.Kadyrova

National Center of Oncology, Azerbaijan Medical University, Baku

The author presented main information reflected modern views to molecular mechanisms of antiviral action realisation at drugs applicated for etiotropic treatment of chronic hepatitis C patients: alpha-interferons, ribavirin, pegilated interferons and directly acting antivirals drugs. Besides the paper contains main principles of carrying out of modern therapeutic programmes included different antiviral drugs.

Поступила 13.05.2015

Болезни мелких бронхов у детей

И.А.Мустафаев

НИИ легочных заболеваний, г.Баку

Одну из важнейших проблем детской пульмонологии представляют хронические неспецифические заболевания бронхолегочной системы. Следует отметить, что многие вопросы, касающиеся обструктивных болезней легких у детей, остаются до сего времени дискуссионными [1, 2]. Это касается, прежде всего, заболеваний мелких бронхов.

К мелким дыхательным путям относятся междольковые, внутридольковые, внутридольковые, субсегментарные (в отдельных долях) бронхи и бронхиолы (терминальные и респираторные). Согласно классификации Н.К.Есиповой, бронхи 4-5 и менее калибра соответствуют малым хрящевым бронхам [11]. Бронхиолы имеют диаметр менее 1 мм и отличаются по строению от бронхов тем, что в их стенке отсутствуют хрящевые пластинки.

Мелкие дыхательные пути характеризуются меньшей степенью защиты от агрессивных факторов по сравнению с крупными бронхами, что определяется особенностями анатомического строения этого отдела дыхательных путей. Терминальные бронхи делятся ассиметрично, что способствует повышению турбулентности потока и оседанию в этих зонах инородных частиц. По мере уменьшения диаметра дыхательных путей эпителиальная выстилка постепенно истончается, в терминальных бронхиолах эпителиальная оболочка тонкая, отсутствует плотная фиброзная оболочка и четкие границы между слоями, что приводит к более легкому проникновению возбудителя в перибронхиальную ткань.

В то же время в мелких бронхах происходит постепенное нарастание количества мышечных волокон. Отсутствие хрящей вне зон деления и фиброзной адвентиции в мелких бронхах способствует развитию спастической реакции, которая является ведущей в защите мелких дыхательных путей в ответ на агрессию. Мышечно-эластический каркас мелких бронхов продолжается на терминальные и респираторные бронхиолы 1-2 го порядка, дистальнее мышечной ткани нет, но присутствуют эластические структуры, которые создают предпосылку для развития спастической реакции, распространяющейся на альвеолы, так

как мышечно-эластические пучки мелких бронхов и бронхиол связаны с эластикой альвеол, что приводит к возникновению очагов ателектазов и эмфиземы. В бронхиолах эвакуация секрета затруднена из-за вязкости, т.к. слизь в основном вырабатывается бокаловидными клетками. Ателектазам способствует гибель клеток Клара терминальных бронхиол, вырабатывающих сурфактант. Мелкие дыхательные пути характеризуются и меньшей степенью иммунологической защиты, т.к. соотношение IgG и IgA, вырабатываемых плазматическими клетками слизистой оболочки, меняется в пользу IgG, убывает количество лимфатических фолликулов, сменяясь скоплениями лимфоцитов без четких границ с полным отсутствием их в респираторных бронхиолах. В мелких бронхах имеется богатая микроциркуляторная сеть в толще всей стенки, откуда легко проникают лейкоциты, формирующие воспалительный инфильтрат, где локализуются тучные клетки, запускающие и поддерживающие воспаление [7, 9].

Таким образом, у детей младшего возраста такие анатомо-физиологические особенности, как относительная узость мелких бронхов, бедность легких эластическими элементами, дефицит пор Кона и Ламберта, горизонтальное стояние диафрагмы и малое количество мышечных волокон в ней, рыхлость и обогащенность интерстиция сосудами, обилие лимфатической ткани определяют склонность детей к обструктивным заболеваниям респираторного тракта, тяжесть их течения и выраженность дыхательной недостаточности [17].

Важной и новой в педиатрической пульмонологии явилась тема облитерирующего бронхиолита (ОБ), а также бронхолегочной дисплазии (БЛД), то есть хронических обструктивных заболеваний мелких бронхов, мало известных широкому кругу педиатров [3, 6, 19].

Облитерирующий бронхиолит (ОБ) - воспалительное заболевание мелких бронхов и бронхиол, характеризующееся частичной или полной необратимой обструкцией дистальных дыхательных путей вследствие пролиферации фиброзной ткани в их стенке или просвете [4]. ОБ формиру-

ется как неблагоприятный исход острого вирусного бронхоолита. Чаще всего заболевание связывают с аденовирусом 3, 7, 21 типов, РС-вирусом, вирусом парагриппа и кори, *Mycoplasma Pneumoniae*, *Chlamidia Pneumoniae* [28]. Кроме того, этиологическими факторами могут быть: аспирации и нигалации различных веществ (высокие концентрации кислорода в периоде новорожденности, аспирации мекония, инородных тел, желудочного содержимого, технических жидкостей ингаляции угарного газа, термические ожоги дыхательных путей), системные проблемы (муковисцидоз, первичная цилиарная дискинезия, врожденные пороки сердца, врожденные иммунодефициты) [6]. В последующем при обострениях ОБ ведущая роль в патогенезе болезни принадлежит инфекционному процессу, а основными эффекторными клетками являются нейтрофилы. В процессе развития инфекционного воспаления поврежденный эпителий и макрофаги продуцируют факторы для привлечения в очаг воспаления нейтрофилов и эозинофилов. Нейтрофилы помимо антиинфекционной защиты принимают участие в протеолитическом повреждении легочной ткани, выделяя нейтрофильную эластазу и инактивируя основной ингибитор нейтрофильной эластазы - α 1-антитрипсин, формируя дисбаланс в системе протеазы/антипротеазы, играющий ключевую роль в развитии эмфиземы при этой патологии. При ОБ в респираторном тракте значительно возрастают концентрации цитокинов, синтезируемых макрофагами: IL-8, IL-1 α , TNF- α [14, 15].

Объективным клиническим симптомом ОБ у всех детей является наличие стойкой обструкции и/или мелкопузырчатых влажных хрипов в легких тахипноэ, одышка, цианоз, "барабанные палочки", деформация грудной клетки встречаются у небольшого числа детей, имеющих тяжелое течение болезни. При подозрении на бронхоолит обращается внимание на следующие объективные данные при осмотре: 1) тахипноэ, 2) одышку с участием вспомогательной мускулатуры в дыхании с западением уступчивых мест грудной клетки, 3) деформацию концевых фаланг пальцев по типу "барабанных палочек", 4) бочкообразную деформацию грудной клетки, 5) аускультативные симптомы в легких [13].

Для правильной постановки диагноза ОБ необходимо применение современных лучевых методов диагностики: рентгенографии и компьютерной томографии высокого разрешения. Характерные рентгенологические признаки ОБ следующие: повышение прозрачности легких в сочета-

нии с локальным пневмосклерозом и перибронхиальными изменениями; распространенное или локальное повышение прозрачности и обеднение легочного рисунка; одностороннее сверхпрозрачное легкое (синдром Маклеода); повышение прозрачности на фоне увеличения объема части легкого. Однако, возможна и нормальная рентгенологическая картина.

Диагностическими симптомами ОБ при КТ являются: сужение просвета и утолщение стенки мелких бронхов; повышение прозрачности легочной ткани в виде распространенной неомогенности вентиляции легочной ткани, участков вздутия легочной ткани с эмфизематозной перестройкой в проекции долей, распространенной неомогенности вентиляции при экспираторном сканировании [19, 22]. У детей с ОБ типичными изменениями функции внешнего дыхания являются нарушение бронхиальной проходимости, о чем свидетельствует изменение ОФВ1 при спирографическом исследовании. Однако у части детей этот показатель остается в нормальных пределах. Дети с более выраженными морфологическими изменениями в легких, кроме снижения ОФВ1 имеют и снижение ЖЕЛ [5].

При лечении детей ОБ применяются ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС). Длительность приема ИГКС составляет 3-4 месяца до полного исчезновения симптомов обструкции. В случаях тяжелого течения процесса и доминировании дыхательной недостаточности используют коротким курсом системные кортикостероиды (СГКС). Бронходилататоры также назначаются ингаляционно, через небулайзер. В качестве муколитического и антиоксидантного средства длительно (1-6мес.) применяют N-ацетилцистеин (АЦЦ). При обострениях болезни в комплекс терапевтических мероприятий включают антибиотики [5, 6].

Бронхолегочная дисплазия (БЛД) - хроническое приобретенное заболевание легких, развивающееся у новорожденных детей в процессе терапии респираторных расстройств с помощью искусственной вентиляции легких (ИВЛ) с высокими концентрациями кислорода, проявляющееся длительной (не менее 28 сут.) кислородозависимостью, дыхательной недостаточностью, гипоксемией, стойкими обструктивными нарушениями и характерными рентгенографическими изменениями [16]. В настоящее время считается, что БЛД обусловлена многими факторами [21] среди которых наибольшее значение придается незрелости легких, дефициту антиоксидантов у детей с ОНМТ, гестационным возрастом менее 30 нед.,

ИВЛ более 3 дней с высокой фракционной концентрацией кислорода (FiO_2) во вдыхаемой смеси более 50% и пиковым давлением вдоха (PIР) более 30 см вод.столба ("жесткие режимы") [2,29]. К факторам риска развития БЛД также относятся: отек легких в результате избыточного объема инфузионной терапии, нарушение выведения жидкости, гемодинамически значимого функционирующего открытого артериального протока (ОАП), недостаточная энергетическая ценность питания и повышенная энергетическая потребность у детей, находящихся на ИВЛ, низкие темпы роста, указания на бронхиальную астму у родственников, дефицит витаминов А,Е,С, дефицит селена, серосодержащих аминокислот [8,10].

Выделяют классическую "старую" и "новую" БЛД. Классическая - развивается у недоношенных детей, у которых не применялись препараты сурфактанта для профилактики СДР, использовались "жесткие" режимы ИВЛ, рентгенологически определяется вздутие легких, фиброз, буллы. "Новая" форма БЛД развивается у детей с гестационным возрастом < 32 недель, у которых применялся сурфактант, щадящая респираторная поддержка, рентгенологически отмечается гомогенное затенение легочной ткани без вздутия. "Новая" БЛД представляет собой паренхиматозное легочное заболевание, характеризующееся нарушением роста и развития альвеол и сосудов малого круга кровообращения. Альвеолярная стадия развития легких продолжается примерно от 36-й недели гестации до 18 недель постнатальной жизни. Дети с "новой" БЛД рождаются до сроков начала этого процесса [11, 12].

Начало развития БЛД можно предположить обычно к 7-10 дню жизни, когда у ребенка, находящегося на ИВЛ по поводу РДС, отсутствует положительная динамика, развивается стойкая дыхательная недостаточность после первичного улучшения состояния (20). Кожные покровы обычно бледные с цианотичным оттенком. Грудная клетка вздута, наблюдается тахипноэ до 80-100 в мин., одышка с втяжением уступчивых мест грудной клетки, затрудненным удлиненным выдохом; коробочный перкуторный звук или притупление перкуторного звука; при аускультации - ослабление дыхания, крепитация, проводные, свистящие мелкопузырчатые хрипы, возможен стридор. Типичны приступы апноэ с брадикардией. При развитии сердечной недостаточности присоединяется кардиомегалия, тахикардия, гепатоспленомегалия, периферические отеки [14, 16]. W.H.Northway в 1967 г. описал 4 рентгенологические стадии БЛД, соответствующие

морфологическим изменениям. 1 стадия - нодозно-ретикулярная сеть, воздушная бронхограмма; 2 стадия - уменьшение прозрачности легкого, нечеткость контуров сердечной тени; 3 стадия - мелкокистозные просветления, мигрирующие ателектазы; 4 стадия - эмфизема, линейные уплотнения, чередующиеся с зонами просветления [22, 23, 24].

К терапевтическим воздействиям при БЛД с доказанной эффективностью относятся респираторная и кислородотерапия, диетотерапия, фармакотерапия, включая диуретики, кортикостероиды, бронхолитики, витамина А (10). При проведении респираторной терапии в аппарате ИВЛ концентрацию кислорода в подаваемом аппарате необходимо максимально уменьшить, при этом очень важно не допустить развитие гипоксемии, поскольку низкое PaO_2 способствует спазму сосудов легких и развитию легочной гипертензии [10, 12].

Основным исходом БЛД является клиническое выздоровление к 1-2 летнему возрасту, неблагоприятным- трансформация БЛД в облитерирующий бронхиолит (ОБ), который развивается у 16% от общего числа больных БЛД и у 50% больных с тяжелым течением заболевания [8]. Вместе с тем при тяжелой БЛД в хронической стадии состояние ребенка на 1-ом году жизни может быть тяжелым в связи с наличием хронической респираторной недостаточности, о которой будут свидетельствовать одышка, тахипноэ в покое, усиливающиеся при нагрузке, сочетающиеся с персистирующим или интермитирующим на фоне ОРЗ бронхообструктивный синдром (БОС). БЛД в качестве основного диагноза может фигурировать у детей до 2 лет. Позднее говорят об исходах БЛД (ХОБ).

ЛИТЕРАТУРА

1. Богданова А.В., Бойцова Е.В., Мурыгина Г.Л., Сесь Т.П. Хронические обструктивные болезни в детском возрасте // *Aqua Vitae. Российский медицинский журнал*. 2001, №4, с.5-8.
2. Богданова А.В.Бойцова Е.В. Эпидемиологические аспекты рецидивирующих и хронических бронхолегочных заболеваний у детей. Пульмонология.2005; прил.: Российское респир. Общ-во. 15 Нац. Конгресс по заболеваниям орг. дыхания. Сборник тезисов 255.
3. Бойцова Е.В. Облитерирующий бронхиолит у детей. В кн. Хроническая обструктивная патология легких у взрослых и детей. Под ред. Кокосова А.Н.-СПб., 2004, с.285-300.
4. Бойцова Е.В. Современные возможности диагностики хронического бронхиолита у детей // *Вестник перинат. Пед.-2001.- №3.-С.36-40.*
5. Бойцова Е.В., Богданова А.В., Картавова В.А., Амосов В.И., Яковлева Н.Г. Оценка степени тяжести хронического бронхиолита у детей // *Педиатрия*. 2001. №5. С.27
6. Бойцова Е.В. Хронический облитерирующий бронхиолит у

детей: Автореф. Дисс. Док. Мед наук., Санкт-Петербург, 2003, с.34.

7. Голобородько М.М. Распространенность и факторы риска формирования болезней мелких бронхов у детей на примере г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области. // Автореф. дисс. к.м.н., СПб, 2009, с.20

8. Давыдова И.В. Формирование, течение и исходы бронхолегочной дисплазии у детей: автореферат дис. доктора медицинских наук : Москва, 2010. 27 с.

9. Детская пульмонология. Под ред Н.Л.Аряева, Киев, 2005, с.608

10. Евсикова Наталья Петровна. Анализ факторов, определяющих исходы при тяжелой бронхолегочной дисплазии у детей различного гестационного возраста: Автореферат дис. кандидата медицинских наук : / Москва, 2008. - 27 с.

11. Есипова И.К., Алексеевских Ю.Г. Структурно-функциональные особенности крупных и мелких бронхов и различия возникающих в них воспалительных реакций // Архив патологии. -1994. -Т.56., №4.- С.6-9

12. Ильенкова Н.А.,Таранушенко Т.Е., Чикунев В.В. Анализ факторов риска развития бронхообструктивного синдрома у детей // Пульмонология детского возраста:проблемы и решения. Под ред. Ю.Л.Мизерницкого. Вып.4,-2004, с.65-66.

13. Котлуков В.К., Бычков В.А., Кузьменко Л.Г. и др. Упорно рецидивирующая обструкция бронхов у часто болеющих детей раннего возраста без атопии / Педиатрия, №5, 2006, с.42-47.

14. Мурыгина Г.Л. Бойцова Е.В., Сесь Т.П., Богданова А.В. Уровни провоспалительных цитокинов и клеточный состав жидкости бронхоальвеолярного лаважа у детей с хроническим бронхиолитом // Педиатрия.-2001,№5, С.24-27.

15. Мурыгина Г.Л. Иммунологические аспекты воспаления при хроническом бронхиолите у детей. Автореф. Дис. Канд. Биол. Наук. -СПБ.,2002. -20с.

16. Овсянников Д.Ю. Бронхолегочная дисплазия у детей первых трех лет жизни: автореф. дис. доктора медицинских наук: Москва, 2010.-27 с.

17. Рачинский С.В.,Таточенко В.К. Болезни органов дыхания у детей. М.-1987, - 496с.

18. Рындин А.Ю. Бронхолегочная дисплазия . В кн.: Кулаков В.И., Серов В.Н. Рациональная фармакология в акушерстве и гинекологии. М. Литера; 2005; с.886-891

19. Спичак Т.В. Облитерирующий бронхиолит в детском возрасте // Педиатрия. 2000. №3. С.91-95.

20. Bancalary E., Abdenoue G.E.,Feller R., Gannon G. Bronchopulmonary displasia clinical presentation. J.Pediatr. 1979; 95; 819-823.

21. Cherucupalli K., Jarson J.E., Rotshild A. Biochemical, clinical and morphologic studies on lung of infants with bronchopulmonary displasia. *Pediatr. Pulmonology*, 1996;22: 215-221

22. Chang A.B., Masel J.P., Masters B. Post-infection bronchiolitis obliterans: clinical, radiological and pulmonary function segueale. *Pediatr Radiol*. 1998. Vol.28. №1. с.23-29.

23. Davis J.M., Rosenfeld W.N. Bronchopulmonary displasia. In; Mac Donald M.G., Seshia M.M.K., Mullert M.D. eds. *Avery's Neonatology*. 6-th Ed.N.-Y.; Lippincott Wiliams & Wilkins; 2005; 578-599.

24. Jobe A.H., Bancalary E. Bronchopulmonary displasia. *Am.J.Respir. Crit. Care Med*.2001; 163; 1723-1729.

25. Muller N., Muller R. Diseases of the bronchioles: CT and histopathologic findings. *Radiology*.-1995.-Vol.196.-P.3-12.

26. Norhway W.H., Rosan R.S., Porter D.Y. Pulmonary dispalsia following respiratory therapy of hyaline membrane disease. *N.Engl. J.Med*. 1967;276; 357-368.

27. Pierce M.R., Bancalary E. The role of inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary displasia. *Pediatr.Pulmonol*. 1995;19; 371-38.

28. Teper A., Fisher G.B., Jones M.H. Respiratory seguelae of viral diseases: from diagnosis to treatment - *J.Pediatr (Rio J)*. 2002. Vol.28. P.187-194

29. Tullus K., Noack G.W., Burman L.G. et al: Elevated cytokine levels in tracheobronchial aspirare fluid from ventilator-treated neonates with bronchopulmonary displasia . *Eur.J.Pediatr*. 1996; 155; 112-116.

SUMMARY

Diseases of small bronchus at children

I.Mustafayev

Scientific Research Institute of Lung Diseases, Baku

In the presented review the author discuss one of the main problems of children pathology - diseases of small bronchus.

Поступила 17.05.2015

Обзор рецензировал член редакционной коллегии журнала "Биомедицина" д.б.н., профессор, академик Международной Экоэнергетической Академии Р.А.Ахундов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Иммуотропные эффекты трех различных комбинированных программ противовирусной терапии больных хроническим вирусным гепатитом С

Н.М.Нагиева, М.К.Мамедов, Т.Н.Мамедова, Р.К.Таги-заде, Р.А.Алиева

Центральная больница нефтяников, Национальный центр онкологии, НИИ гематологии и трансфузиологии им.Б.Эйвазова, г.Баку

Как известно, терапевтическое действие лекарственных препаратов на основе альфа-интерферонов (ИФН) при хроническом вирусном гепатите С (ХГС) традиционно трактуется как результат кумуляции противовирусного действия, обусловленного влиянием ИФН на чувствительные к вирусу гепатоциты и лимфоидные клетки и иммуностимулирующего действия, детерминированного способностью ИФН активизировать клеточные и гуморальные факторы иммунной системы (ИС) и, в первую очередь, факторы врожденного иммунитета, отвечающие за противовирусную защиту организма [1, 2].

Вместе с тем, реальная значимость иммуотропного компонента, формирующего указанную терапевтическую активность препаратов ИФН, все еще объективно не оценена, тем более, что препараты ИФН не могут однозначно причисляться к препаратам, стимулирующим ИС, поскольку они оказывают на ИС ряд плейотропных эффектов, часть из которых (в том числе, лейко- и лимфопения) не может расцениваться как стимуляция [3]. Именно это обстоятельство побудило нас специально исследовать характер влияния комбинированной противовирусной терапии (ПВТ), включающей введение препаратов ИФН, на основные показатели иммунограммы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Было проведено иммунологическое исследование образцов крови 55 больных ХГС, имевших показания к проведению соответствующей противовирусной терапии. 20 больных получили лечение по программе "р-ИФН + ПВ", когда им в режиме "1 инъекция 3 раза в неделю" вводился препарат р-ИФН (украферон) в разовой дозе 3 млн МЕ и они перорально принимали ПВ по 800-1200 мг ежедневно.

Еще 20 больных получили лечение по программе "ПЭГ-И + ПВ" - им вводили пегасис в дозе 180 мг в режиме "1 инъекция в неделю", а также назначали

пероральный прием ПВ по 800-1200 мг ежедневно.

Наконец еще 15 больных получили лечение по программе "ПЭГ-И + ПВ (в тех же дозах и режимах, что и предыдущая группа больных), а также один из препаратов прямого противовирусного действия (ППД): 6 больных принимали таблетки телпревира (по 6 таблеток в сутки), а 9 больных принимали таблетки софосбувира (по 1 таблетке в сутки).

Иммунологическое исследование крови больных ХГС проводилось дважды - до начала лечения и спустя один месяц после его начала.

Иммунологическое исследование крови всех больных ХГС включало определение процентного содержания в ней нескольких различных типов иммуноцитов: CD3 (общий пул Т-лимфоцитов), CD4 (Т-хелперные лимфоциты), CD8 (Т-супрессорные лимфоциты), CD19 (В-лимфоциты) и CD16/56 (NK-лимфоциты).

Исследование проводили на базе лаборатории иммунологии в НИИ гематологии и трансфузиологии им.Б.Эйвазова с помощью лазерного проточного цитометра BD FACS Canto II со строгим соблюдением рекомендаций по эксплуатации названного прибора.

Полученные результаты математически обрабатывали с помощью соответствующей компьютерной программы по статистике.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Результаты определения указанных выше иммуноклеточных показателей у больных ХГС, получивших противовирусную терапию по трем различным комбинированным программам отражены в форме графика, представленного в таблице.

В первую очередь надо заметить, что среди обследованных нами больных ХГС ни в одном случае не было выявлено ощутимого отклонения средних величин определенных нами показателей иммунограмм.

Сравнив представленные на рисунке столбики, отражающие величину соответствующих показателей иммунограммы, мы обнаружили, что в большинстве случаев иммунологические показатели, определенные до начала лечения отлича-

Таблица. Средние величины процентного содержания иммуноцитов в крови больных ХГС, получивших противовирусную терапию по трем разным комбинированным программам

Программы лечения и число больных	Время исследования *	Показатели иммунограммы				
		CD3	CD4	CD8	CD19	CD16/56
p-ИФН + PB n=20	до начала	66,2	39,4	23,0	15,0	19,4
	во время	70,7	44,9	23,7	14,3	22,1
ПЭГ-И + PB n=20	до начала	68,0	36,5	22,8	17,2	20,2
	во время	69,9	38,3	22,9	16,7	21,6
ПЭГ-И+PB+ППД n=15	до начала	60,8	38,4	25,2	16,0	20,8
	во время	62,6	40,0	24,3	15,8	21,7

* по отношению к лечению

лись от соответствующих показателей, определенных через месяц после начала противовирусной терапии.

Так, содержание в крови общего пула Т-лимфоцитов (CD3) до лечения возросло во всех группах, хотя наиболее выраженным их увеличение было у больных, которые получали ПВТ по программе "p-ИФН + PB" - в этой группе оно составило почти 7%. В двух остальных группах больных его увеличение не превысило 3%.

Содержание Т-хелперных лимфоцитов (CD4) также повысились во всех группах, причем, как и в предыдущем случае, наиболее вывращенным это повышение оказалось в группе больных, которые получали ПВТ по программе "p-ИФН + PB" - здесь оно составило почти 14% от исходного содержания этих клеток до начала ПВТ. В остальных группах повышение содержания CD4-клеток не превысило 5%.

Два описанных выше эффекта можно было бы трактовать, как проявление способности препаратов ИФН стимулировать Т-клеточное звено иммунной системы [3]. При этом, пришлось признать, что отмеченная способность оказалась наиболее выраженной у препаратов p-ИФН и менее выраженной у препаратов ПЭГ-ИФН. Мы полагали, что это могло быть обусловлено тем, что процесс пегилирования молекул ИФН мог снижать выраженность их иммунотропных свойств [4].

В то же время, характеризуя отмеченные нами изменения содержания в крови Т-супрессорных лимфоцитов (CD8), то надо отметить, что они не носили столь однозначного характера. Так, в группе больных, получавших ПВТ по программе "p-ИФН + PB" этот показатель возрос лишь на 3%, а в группе больных, получивших лечение по программе "ПЭГ-И + PB + ППД" - снизился почти на 4%. При этом в группе больных, получивших лечение по программе "ПЭГ-И +

PB" данный показатель практически не изменился.

Касаясь же характера изменения содержания в крови В-лимфоцитов (CD19), отметим, что после начала лечения он снизился в группе больных, получивших лечение по программе "p-ИФН + PB" (на 4,7%) и в группе больных, получивших лечение по программе "ПЭГ-И + PB"(почти на 3%) и практически не изменился в группе больных, получавших ПВТ по программе "ПЭГ-И + PB + ППД". Данный факт также подтвердил обоснованность сделанного нами заключения о том, что иммунотропная активность препарата p-ИФН превосходит таковую у препарата ПЭГ-ИФН.

И, наконец, особо отметим, что содержание в крови NK-клеток (CD16/56) во всех группах после начала противовирусной терапии заметно повысилось, что мы объяснили прямым стимулирующим влиянием на эти клетки препаратов альфа-интерферонов [5]. В то же время, наиболее выраженным повышение количества этих клеток в крови оказалось в группе больных, получивших лечение по программе "p-ИФН + PB" - у этих больных содержание указанных клеток возросло почти на 14% от их количества до начала ПВТ.

Количество этих же клеток в группе больных, получивших лечение по программе "ПЭГ-И + PB" возросло на почти 7%, а в группе больных, получавших лечение по программе "ПЭГ-И + PB + ППД" - менее, чем на 5% от их исходного количества до лечения.

Итак, полученные нами результаты позволили полагать, что все использованные для лечения программы ПВТ больных ХГС оказывали на их организм вполне определенное иммунотропное влияние, выражавшееся в том, что через месяц после начала лечения у этих больных были отмечены определенные сдвиги в иммунограммах.

Вместе с тем, во всех случаях выраженность изменений показателей иммунограммы была заметно выше у больных, которые получали ПВТ по программе, включавшей препарат р-ИФН.

Это дало основание полагать, что пегилированные препараты ИФН оказывают менее выраженное иммуностропное действие, нежели препараты р-ИФН. Однако, в литературе имеются указания на то, что процесс пегилирования ИФН приводит к повышению противовирусной активности модифицированных молекул ИФН, причем нарастание этой активности происходит по мере увеличения молекулярной массы ПЭГ-ИФН [4]. Однако, судя по нашим результатам, эти данные не отражают влияния пегилирования на их способность стимулировать ИС.

Таким образом, приведенные выше результаты показали, что изменения в иммунограмме больных ХГС, получивших лечение по программам, включавшим препараты ПЭГ-ИФН оказались менее выраженными, нежели у тех больных, которые получили противовирусное лечение по программе, включавшей препарат р-ИФН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мамедов М.К. Вирусный гепатит С. Баку: Элм, 2014, 192 с.;
2. Ершов Ф.И., Кадырова А.А. Интерфероны как стимуляторы иммунологически обусловленной резистентности. // Биомедицина, 2004, N.1, с.17-22.
3. Мамедов М.К., Кадырова А.А. Интерфероны и их применение в клинической медицине. Под ред. Т.А.Семененко. М.:

Кристалл, 2005, 288 с.

4. Мамедов М.К., Кадырова А.А., Гулиева А.А., Сафарова С.М. Перспективы применения пегилированных альфа-интерферонов в качестве стимуляторов врожденного иммунитета. // Азерб. Ж. онкологии, 2010, N.1, с.147-150;
5. Сепиашвили Р.И., Балмасова И.П. Физиология естественных киллеров. М.: Медицина-Здоровье, 2005, 456 с.

SUMMARY

Immunotropic effects of three different combined programmes of hepatitis C virus' course antiviral treatment of chronic hepatitis C patients

N.Nagiyeva, M.Mamedov, T.Mamedova, R.Tagi-zadeh, R.Aliyeva

Azerbaijan Medical University, National Center of Oncology, B.Eyvazov's Hematology and Transfusiology Scientific Research Institute, Baku

The authors presented results of determination of parameters of immunogramme at chronic hepatitis C patients who received antiviral therapy according three different combined programmes included recombinant interferon or pegylated interferon and ribavirin. It was shown that immunotropic activity of recombinant interferon was higher than similar activity of pegylated interferon.

Поступила 25.03.2015

Инновационные методы молекулярной диагностики в медицине

Э.М.Агаева, Ш.К.Зейналова, В.А.Нариманов

Азербайджанский медицинский университет, г.Баку

В третьем тысячелетии в молекулярной биологии произошел научный переворот, обусловленный рядом открытий, в результате которых сформировалось новое направление в научном мире-молекулярная микробиология, молекулярная патология, молекулярная эпидемиология, технология рекомбинантной ДНК или рек ДНК, возможность анализа и выделения генов, прямо или косвенно ответственных за развития наследственных, онкологических и инфекционных болезней [18, 21, 22, 26].

Сущность этой методологии заключается в идентификации и анализе нуклеиновых кислот и кодируемых ими белковых молекул. Идентификация трудно диагностируемых инфекционных болезней стала возможной благодаря развитию молекулярных технологий.

Использование ранее применяемых методов лабораторной диагностики имеет ряд недостатков, однако точное определение возбудителя болезни возможно лишь определением и анализом его генома (ДНК или РНК), что обусловлено уникальными особенностями нуклеиновых кислот.

В настоящее время в молекулярной диагностике применяются ПЦР, молекулярная гибридизация, секвенирование, фагоплазмидное типирование, многочисленные биоинформатические методы, позволяющие проводить классический анализ результатов исследований, дизайн праймеров, плазмидных векторов.

Основу современных методов молекулярной диагностики составляет полимеразная цепная реакция (ПЦР), изобретенная, американским ученым Кери Мюлисс и позволяющая клонировать в условиях *in vitro* любой участок ДНК любого организма [1, 3, 5]. В 1983 г американский журнал "Science" назвал это открытие самым выдающимся открытием последних лет. Научное сообщество за разработку ПЦР присудило Керри Мюлиссу Нобелевскую премию (1991) [3, 14, 27].

В настоящее время эта реакция широко применяется во всех направлениях биологии. Диагностика инфекционных заболеваний, генодиаг-

ностика и генотипирование микроорганизмов, определение их вирулентности, устойчивости к антибиотикам, пренатальная диагностика, идентификация и анализ ДНК, РНК, белковых молекул, прогнозирование и определение мутаций, рекомбинаций [1, 2, 3, 8, 9, 17, 23].

С помощью ПЦР за сутки можно получить 100 млрд. одинаковых по структуре молекул. Сущность ПЦР состоит в многократном копировании фрагмента генома возбудителя, определяющего его индивидуальность.

Фрагмент ДНК (нуклеотидная последовательность) можно выделить *in vitro*, нарастить и с помощью, праймеров идентифицировать все микроорганизмы, принадлежащие к данному виду. ПЦР характеризуется быстротой, высокой чувствительностью, высокой специфичностью, прямым определением наличия возбудителя, возможностью диагностики хронических и латентных инфекций, контролированием степени выздоровления и высокой скоростью получения результатов анализа.

В ПЦР можно идентифицировать микроорганизмы, присутствующие в пробе в очень низких концентрациях возбудителя [5, 6, 8, 20].

В основе метода ПЦР лежит комплементарное достраивание ДНК матрицы, осуществляемое *in vitro* с помощью фермента ДНК-полимеразы.

В настоящее время практически к каждому микроорганизму сконструированы специфические праймеры [12, 13, 15].

В ПЦР применяют термостабильную ДНК-полимеразу, получившую название tag-полимеразы, обнаруженную у термофильных бактерий *Thermus aquaticus*, обитающих в термальных источниках. Оптимум работы tag-полимеразы находится в диапазоне 70-75°C и она благополучно переносит нагревание до 95°C. Taq-полимераза неспособна катализировать процесс обратной транскрипции, то есть синтез однострессовой ДНК на РНК матрице. В 1991 году Маерсом и Гельфандом описан фермент ДНК-зависимой ДНК полимеразы, выделенной из другого термофила

Termus thermophilus (Tth-полимераза), который в присутствии ионов магния и хелаторов марганца позволяет ферменту катализировать обычную ДНК-зависимую ДНК-полимеразную реакцию. Этот фермент может быть использован для одновременного синтеза комплементарных однонитевых фрагментов ДНК и их амплификации [23, 24, 28].

Обязательным компонентом, необходимым для работы ДНК-полимеразы, является праймер. Создание праймера для ПЦР стало возможным после расшифровки нуклеотидной последовательности ДНК тех или иных организмов.

Геном каждого организма содержит уникальные последовательности нуклеотидов, не повторяющиеся больше ни у каких других видов организмов. Сейчас во всем мире идет активная работа по расшифровке нуклеотидных последовательностей геномов различных микро и макроорганизмов. В настоящее время уже расшифрованы геном человека, нуклеотидные последовательности многих вирусов и бактерий. Существуют компьютерные банки данных, где можно получить информацию о нуклеотидной последовательности практически всех известных возбудителей инфекционных заболеваний. Данные по нуклеотидной последовательности всех видов нуклеиновых кислот опубликованы в форме веб-страницы на серверах баз данных таких, как Gen Bank (www.ncbi.nlm.nih.gov), EMBL (база данных Европейской лаборатории молекулярной биологии www.ebi.ac.uk/embl), DDBJ (японская база данных нуклеотидных и аминокислотной последовательности, www.sddbj.nig.ac) [2, 21, 22].

При разработке праймера требуется найти фрагмент молекулы ДНК, который бы отличался генетической консервативностью и присутствовал только у интересующего нас вида микроорганизмов, при этом длина фрагмента должна составлять примерно 20 нуклеотидов. Прodelать эту работу помогают специальные компьютерные программы. На компьютере обычно проводится множественное выравнивание последовательностей. Наиболее распространенным модулем выравнивания является ClustalW. Он может быть установлен как самостоятельная программа или быть встроенным в состав более современных программ для анализа первичных структур нуклеиновых кислот и белков (BioEdit, Oligo, Vector NTI, Primer и других). Множественное выравнивание является очень важным этапом исследований, так как опубликованные различными исследователями последовательности секвенирования генов-мишеней имеют различия по длине локу-

сам начала и конца распознавания. т.д. В соответствии с найденной последовательностью нуклеотидов и синтезируется праймер. Поскольку наращивание дочерних нитей ДНК может идти одновременно на обеих цепях материнской ДНК, то для работы ДНК-полимеразы на второй цепи тоже требуется свой праймер. Таким образом, в реакционную смесь вносятся два праймера. Ренатурация (присоединение праймеров) происходит при снижении температуры до 60°C. Пары олигонуклеотидов подбирают таким образом, чтобы их температура плавления отличались не более чем на 3°C. Необходимо заметить, что теоретически рассчитанная температура отжига праймеров не всегда позволяет получить высококачественный практический результат, поэтому в практических исследованиях следует оптимизировать этот параметр [1, 8, 10, 19, 22].

Итак, для создания и теоретического исследования качества праймеров, зондов и их систем предложено немало методических и методологических подходов, основанных на термокинетических показателях и изучения гомологии олигонуклеотидов к матрице. Учитывая разнообразие подходов и способов конструирования, а также программного обеспечения, применяемого для этой цели, существует необходимость оценки и обобщения данных по разработке праймерных и других олигонуклеотидных систем, а также оценки параметров их качества. Недостаток отечественных и зарубежных публикаций по этому вопросу стал причиной для теоретической разработки и экспериментального обоснования параметров расчета праймерных систем для создания рекомбинантных конструкций и диагностических наборов на основе полимеразной цепной реакции. Фактически, праймеры, присоединившись к противоположным цепям молекулы ДНК, ограничивают собой тот ее участок, который будет в дальнейшем многократно удвоен или амплифицирован. Такие фрагменты ДНК называются ампликонами. Длина ампликона может составлять несколько сот нуклеотидов. Меняя пару праймеров, мы можем переходить от анализа одного возбудителя к анализу другого [2, 16, 18, 24].

Чтобы понять, как именно происходит амплификация определенного сегмента ДНК в ходе ПЦР, нужно четко представлять положение всех праймеров и комплементарных им последовательностей в амплифицируемых цепях в каждом цикле. В первом цикле каждая из новосинтезированных цепей имеет гораздо большую длину, чем расстояние от 3'-гидроксильной группы "ее" праймера до концевой нуклеотида последова-

тельности, комплементарной второму праймеру. Такие цепи называют "длинными матрицами", именно на них будет идти дальнейший синтез.

При идентификации в образцах РНК у РНК-содержащих вирусов амплификации предшествует стадия обратной транскрипции при которой РНК переводят в форму ДНК с помощью фермента обратной транскриптазы, открытой лауреатом Нобелевской премии-Девидом Балтимором и Говардом Теминным. Далее проводят электрофоретическую детекцию продуктов ПЦР-ампликонов.

Продукты ПЦР помещают в лунки агорозного геля и подвергают действию постоянного электрического тока, в результате чего отрицательно заряженная молекула ДНК движется к положительному электроду. В состав геля входит бромистый этидий, образующий устойчивый комплекс с ДНК и способствующий лучшему просмотру появившихся полос под ультрафиолетовым облучением [22, 23, 28].

Другие методы детекции основаны на идентификации меченых компонентов реакции. В частности, в отдельных тест-системах (фирмы "Хофман Ля Рош") используются праймеры, меченные биотином. В процессе детекции ампликон, меченный биотином, гибридизуется со специфическим ДНК-зондом, иммобилизованным на микропланшете. На следующей стадии биотин связывается с конъюгатом авидин-пероксидаза хрена. Активность фермента, входящего в комплекс ампликон-биотин-авидин-пероксидаза хрена, выявляют приёмом, используемым при стандартном иммуноферментном анализе. Интенсивность окраски определяют на планшетном фотометре при 450 нм. Данный подход позволяет проводить объективную оценку результатов реакции в виде показателей оптической плотности и следовательно, количественно определять концентрацию ДНК или РНК в пробе.

В настоящее время разработан ряд подходов, повышающих специфичность реакций. Применяется так называемая Nested PCR (гнездовая ПЦР). Принцип данного метода заключается в использовании двух пар праймеров, одна из которых способна амплифицировать внутренний участок ампликона, полученного после первого цикла, с внешней парой праймеров. Применение гнездовой ПЦР имеет преимущества: высокая чувствительность методики, отсутствие необходимости использовать другие методы. К недостаткам относят перенос продуктов реакции из одной пробирки в другую, что существенно снижает

концентрацию ингибиторов, а также приводит к появлению большого количества ложноположительных результатов вследствие перекрёстной контаминации проб продуктами амплификации. Также для повышения чувствительности и специфичности реакции используется "горячий старт". Суть его заключается в том, что прежде чем добавлять Taq-полимеразу, реакционная смесь прогревается предварительно до 95°C. Это исключает возможность образования неспецифических фрагментов вследствие неспецифического отжига праймеров при температуре ниже оптимальной. Индикацию, идентификацию и генотипирование микроорганизмов проводят с предварительным приготовлением положительных образцов, созданием праймеров, зондов буферных систем и микрочипов [7, 9, 11, 20].

При применении методов, предусматривающих использование микрогибридизационных планшетов и микрочипов, в технологических этапах производства приобщаются к изготовлению и иммобилизации подложек.

ПЦР - диагностикумы распределяют по методикам на основе классической ПЦР: моноступенчатая (индикация одного вида микроорганизма по одному гену в одноцикловой реакции), duplex - ПЦР (индикация одного возбудителя с двумя генами с целью повышения специфичности детекции), multiplex (индикация одного возбудителя с несколькими (более двух) генами, или индикация нескольких различных возбудителей) и nested-ПЦР (индикация одного возбудителя в двухстадийной реакции с целью повышения чувствительности детекции, или индикация с последующим типированием) и ПЦР в реальном времени (простая ПЦР, multiplex и количественные варианты). Указанные диагностикумы обеспечивают быструю, высокочувствительную и высокоспецифичную детекцию патогенов за обнаружением нуклеиновых кислот [2, 17, 18, 25].

Исходя из вышеизложенного высокая специфичность и чувствительность ПЦР-метода позволяет быстро обнаружить возбудитель в образцах даже в случае нахождения его в единичных количествах за короткий промежуток времени и таким образом поставить точный диагноз, провести своевременное лечение и разработать профилактические мероприятия [21, 22, 28].

Таким образом, разработка и широкое внедрение в диагностику инфекционных заболеваний, инновационных методов молекулярной диагностики, является приоритетным в совершенствовании медицины и ветеринарии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаева Э.М., Зейналова Ш.К. Молекулярно-биологические и генетические исследования при Ньюкаслской болезни // Актуальные проблемы биологической и химической науки. Сборник материалов международной научно-практической конференции, 2012, с. 207-208.
2. Герилович, А. П. Обоснование практических подходов к разработке методик индикации и идентификации возбудителей инфекционных заболеваний животных вирусной этиологии на основе ПЦР-анализа // Вет. Патология, 2007, № 4, с. 107-111.
3. Гусева Е.В. и Сатина Т.А. Применение полимеразной цепной реакции (ПЦР) в диагностике инфекционных заболеваний животных. Владимир// 1995, с. 59
4. Aymard M., Neuraminidase assays//Dev Biol (Basel), 2003, Vol. 115, pp. 75-183.
5. Aldous E.W., A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene // Avian Pathol., 2003, Vol. 32, № 3, pp. 239-256.
6. Alexander, D.J. Newcastle Disease, Other Avian Paramyxoviruses, and Pneumovirus Infections [Text] / D.J. Alexander [et al.] // Saif, Y.M. Diseases of Poultry / Y.M. Saif. - Iowa State Press, Ames, Iowa, 1993, Vol.11, pp. 63-80.
7. Bartlett J.M.S, Stirling D., PCR Protocols, Second Edition. Methods in Molecular Biology // Humana Press, 2003, Vol. 226, pp. 556.
8. Becker-André M., Hahlbrock K., Absolute mRNA quantification using the polymerase chain reaction (PCR). A novel approach by a PCR aided transcript titration assay (PATTY) // Nucleic Acids Res., 1989, Vol. 17, № 22, pp. 9437-9446.
9. Clin J., Stark D., Comparison of stool antigen detection kits to PCR for diagnosis of amebiasis //Microbiol., 2008, Vol. 46, № 5, pp. 1678-1681.
10. Collins M.S., Bashiruddin B.J. and Alexander D.J. Deduced amino acid sequences at the fusion protein cleavage site of Newcastle disease virusesshowing variation in antigenicity and pathogenicity // Arch. Virol., 1993, Vol. 128, pp. 363-370.
11. Creelan, J.L., McCullough S.J., Detection and differentiation of pathogenicity of avian paramyxovirus serotype 1 (APMV-1) from field cases using one-step real-time RT-PCR // Dev Biol (Basel), 2006, Vol. 126, pp. 149-157.
12. Crossley B.M, High-throughput real-time RT-PCR assay to detect the exotic Newcastle Disease Virus during the California 2002–2003 outbreak // J Vet Diagn Invest., 2005, Vol. 17, № 2, p. 124-132.
13. Hemmatzadeh, F. Sequencing and phylogenetic analysis of gp51 gene of bovine leukaemia virus in Iranian isolates // Vet Res Commun., 2007, Vol. 31, № 6, pp. 783-789.
14. Heminested PCR assay for detection of six genotypes of rabies and rabies-related viruses [Text] / P.R. Heaton [et al.] // J Clin Microbiol. - 1997. - Vol.35, N 11. - P. 2762-2766.
15. Ishii, K., M. Fukui Optimization of annealing temperature to reduce bias caused by a primer mismatch in multitemplate PCR // Applied and Environmental Microbiology, 2001, Vol. 67., pp. 3753-3755.
16. Kim, O. Optimization of in situ hybridization assay using non-radioactive DNA probes for the detection of canine herpesvirus (CHV) in paraffin-embedded sections // J Vet Sci., 2004, Vol.5, № 1, pp. 71-73.
17. Kumar S.MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software // Bioinformatics, 2001, Vol. 7, p.1244-1245.
18. Lamb, R. A. D. Kolakofsky Paramyxoviridae: The Viruses and their Replication // Fourth Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philidelphia, 2001, pp. 1305-1334.
19. Malik Y.S., Patnayak D.P., Goyal S.M., Detection of three avian respiratory viruses by single-tube multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction assay// J Vet Diagn Invest., 2004, Vol. 16, № 3, pp. 244-248.
20. Mardis, E.R. Next-generation DNA sequencing methods [Text] / E.R. Mardis // Ann. Rev. Genomics Hum. Genet. - 2008. - Vol. 9. - P. 387-402.
21. Molecular genetics: piecing it together [Electronic source] / Слосіб доступу URL: //www.ncbi.nlm.nih.gov/About/primer/genetics_molecular.html - Title from the screen.
22. Молекулярная генетика [Эл. ресурс] / Режим доступа: URL: http://www.bse.sci-lib.com/article077555.html - Заголовок с экрана.
23. Niessen, L. PCR-based diagnosis and quantification of mycotoxin-producing fungi // Adv Food Nutr Res., 2008, Vol. 54, pp. 81-138.
24. Saif, Y. Disease of Poultry. [Text] / Y. Saif. - 11th edition - Totowa Press, 2002, pp- 1352.
25. Soares P.B., Standardization of a duplex RT-PCR for the detection of Influenza A and Newcastle disease viruses in migratory birds] // Virol Methods, 2005, Vol. 123, № 2, pp. 125-130.
26. Triche, T.J. Molecular Genetic Techniques in Surgical Pathology [Text] / T.J. Triche // Clinical Biochemistry. - 1995. - Vol. 28, N 3. - P. 352.
27. Viljoen, G. J., Molecular Diagnostic PCR Handbook // Methods in Molecular Biology, 2005, Vol. 92, p.345.
28. Wang C.H., Hsieh M.C., Chang P. C. Isolation pathogenicity and H120 protection efficacy of infectious bronchitis viruses isolated in Taiwan. Avian Dis. //1996, Vol.40, p.620-625.

SUMMARY

Innovative methods of molecular diagnostics in medicine

E.Agayeva, Sh.Zeynalova, V.Narimanov
Azerbaijan Medical University, Baku

In the article authors presented main information dedicated to one of the innovative diagnostic methods in molecular biology - polymerase chain reaction and shown importance of it's wide usage in modern medicine.

Поступила 29.03.2015

Значимость патологии щитовидной железы в нарушении репродуктивной функции у женщин с бесплодием

Н.Р.Алиева

Азербайджанский медицинский университет, г.Баку

Проблема infertility продолжает оставаться одной из серьезных проблем современной гинекологии. По данным ВОЗ во всем мире от бесплодия страдает 60-80 млн. супружеских пар. Общеизвестно, что бесплодие является функциональным состоянием, обусловленное рядом заболеваний. В настоящее время нет конкретной оценки распространения бесплодия. Считается, что в течение репродуктивного периода 8% супружеских пар сталкиваются с данной проблемой. В России зарегистрировано более 5 млн. бесплодных супружеских пар [1, 2].

Согласно литературным сведениям, частота бесплодных браков колеблется в пределах 13-17%, что по данным ВОЗ, является критически уровнем. По экспертной оценке показатель женского бесплодия за последние 5 лет увеличился на 14% [2-5]. Согласно данным последних лет в Европе бесплодие отмечено у 10% супружеских пар, в США 15%, в Канаде 17%, в Австралии 15,5%, в России 17,5%, в Белоруссии 15% [1-4;6]. В последние годы все более актуальной становится проблема взаимосвязи нарушений репродуктивной функции и патологии ЩЖ [7-13]. Обусловлено это, с одной стороны тем, что до настоящего времени нет четкого определения роли патологии ЩЖ в структуре причин бесплодия у женщин репродуктивного возраста. С другой стороны, неопределенность тактики восстановления репродуктивной функции у пациенток с бесплодием при патологии ЩЖ. Учитывая отмеченное, целью исследования явилось определение значимости патологии щитовидной железы в нарушении репродуктивной функции у женщин с бесплодием.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Проведено комплексное обследование 220 пациенток с бесплодием различного генеза. Наличие инфекций (токсоплазмоза, герпес и цитомегаловирусной, хламидийной, микоплазменной, уреаплазменной инфекций, краснухи) проводили с использованием ИФА. С помощью молекулярно-биологического метода (ПЦР) выявляли вирусные и бактериальные агенты. Ультразвуковым методом (УЗИ) определяли функциональные и структурные изменения ЩЖ, органов малого таза, молочных желез.

Методом гистеросальпингографии проводили оценку состояния матки и маточных труб. По показаниям проводили лапароскопию. Методом "ЭЛИ-П-Комплекс-12", на основании твердофазного ИФА оценивали репродуктивное состояние здоровья пациенток [14]. Для выявления тиреоидной патологии всем пациенткам проводили согласно общепринятым протоколам стандартные исследования, включающие: ТТГ; фракций свободных и общих Т3; Т4; АТ-ТГ, АТ-ТПО, а также проведены и гормональные исследования. Пациентки были осмотрены эндокринологом и в случае необходимости проводили дополнительное обследование и определяли объем необходимой терапии. На основании анализа анамнеза, клинико-лабораторных данных, определения этиологического фактора были выделены следующие группы: I группа - пациентки с трубно-перитонеальным бесплодием n=62(28%); II группа - пациентки с эндокринным бесплодием n=75 (34%); III группу - пациентки с маточной формой бесплодия n=40 (18%); IV группу составили пациентки с бесплодием неясного генеза n=43(20%). Контрольную группу (КГ) составили n=30 фертильных женщин без патологии ЩЖ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Анализ полученных результатов показал, что первичное бесплодие выявлено у 139 (63,2%) пациенток, вторичное бесплодие - 81 (36,8%) случаев (рис.1). По возрасту, пациентки с различной формой бесплодия были представлены следующим образом (табл. 1). У всех пациенток отмечался отягощено-акушерский анамнез. Результаты проведенного исследования показали, что патология ЩЖ выявлена у 101 (45,9%) пациенток с бесплодием. У 119 пациенток с бесплодием, что составило 54,1% случаев, патологии ЩЖ выявлено не было.

Всем 220 пациенткам с бесплодием проведено комплексное клинико-лабораторное обследование. При объективном осмотре у 189 (85,9%) пациенток отмечен правильный тип телосложения, у 31 (14,1%) - астенический или гиперстенический типы телосложения. Дефицит массы тела отмечено в 13 (5,9%) случаев. Проводили определение индекса Вгеу (масса/рост). Избыточная масса тела выявлена у 16 (7,2%). Оволосение оценивали по шкале Ferriman и Golway. У

77,5% женщин показатель гирсутного числа в среднем составил $5,1 \pm 0,3$ баллов. У 18,6% пациенток гирсутное число составило $9,0 \pm 0,4$ балла, что соответствовало пограничной степени оволосения; у 3,9% пациенток выявлен гирсутизм при показателях гирсутного числа $14,1 \pm 0,9$ балла. У всех женщин оценивали состояние молочных желез. Почти у всех пациенток выявлено умеренное развитие молочных желез, соответствовавшее III-V степеням по шкале Tanner. При пальпации у 6 (2,2%) пациенток обнаружено диффузное уплотнение железистой ткани. Результаты ультразвуковых исследований и маммографии у 22 (10%) пациенток с выявленными уплотнениями указали на наличие фиброзно-кистозной мастопатии. Длительность бесплодия до 5 лет наиболее чаще отмечалась у пациенток III-ей, IV-ой и II-ой группах: 95%; 93,3% и 90,7% соответственно, тогда как в I-ой группе этот процент был существенно ниже и составил 71%. Длительность бесплодия от 6 до 10 лет в I-ой и IV-ой группах констатировано в 14,5% и 9,3% случаев соответственно, тогда как во II-ой и в III-ей группах - 5,3% и 5% случаев. Длительность бесплодия свыше 10 лет отмечено лишь в I-ой группе в 14,5% случаев.

По данным гистеросальпингографии проходимость обеих маточных труб в I-ой группе наблюдалась у 35,5% пациенток, затрудненная проходимость маточных труб - у 29,0% пациенток. Признаки спаечного процесса в малом тазу у данной группы диагностированы у 25,8% пациенток. У пациенток II-ой, III-ей и IV-ой групп маточные трубы были проходимы.

Структура тиреоидной патологии у пациенток с бесплодием: гипотиреоз выявлен в 55 (25%) случаях, в том числе манифестный - 13 (5,9%) субклинический - 42 (19,1%). Гипертиреоз выявлен у 6 (2,73%) пациенток, в том числе манифестный - 2 (0,9%), субклинический - 4 (1,82%); послеоперационный у 2 (0,9%) пациенток. АИТ без нарушения функции ЩЖ (носительство АТ-ТРО > 100 мЕд/л + УЗИ признаки АИТ) выявлено

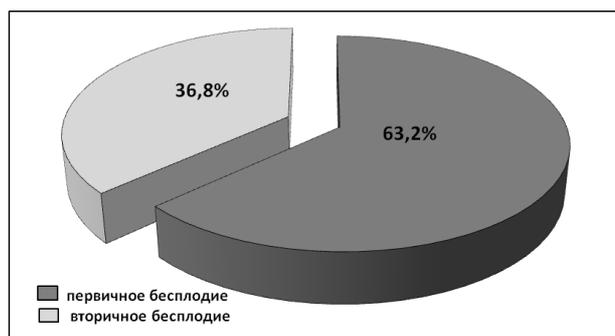


Рис.1. Частота встречаемости бесплодия у обследованных пациенток

у 21 (9,54%) пациенток. Эутиреоидный зоб отмечен в 17 (7,72%) случаях, в том числе диффузный зоб - 5 (2,27%), узловой - 7 (3,18%), смешанный (диффузно-узловой) зоб - 3 (1,36%), многоузловой - 2 (0,9%) случаев. Анализ клинических симптомов и признаков гипофункции ЩЖ у пациенток с бесплодием показал, что у 58,2% пациенток отмечалось прибавка в весе, бледность кожных покровов наблюдалось в 30,9% случаев; 89% случаев - сухость кожи; в 34,5% - похолодание кожных покровов; периодические ознобы наблюдались в 49,1% случаев; общая слабость - в 52,7% случаев. Наиболее чаще отмечались и отеки: вокруг глаз - 32,7% случаев; отечность лица - в 21,8%; отечность конечностей - 30,9% случаев. Среди клинических симптомов и признаков также чаще выявлены: чувства ползания мурашек - 40% случаев; депрессия - 34,5% случаев; нарушение памяти - 34,5%; сонливость - 52,7%; ломкость ногтей - 70,9% случаев. Для пациенток с гипофункцией ЩЖ характерно было усиленное выпадение волос, которое отмечалось с частотой 58,1% случаев. Характерны были и боли в области сердца - 30,9% случаев; боли в мышцах - 61,8% случаев. Периодические запоры наблюдались в 34,5% случаев.

Анализ клинических симптомов и признаков гипертиреоза, эутиреоидного зоба у пациенток с бесплодием показал, что 29,4% случаев у пациен-

Таблица 1. Распределение пациенток с различной формой бесплодия в зависимости от возраста

Возраст	I группа n=62		II группа n=75		III группа n=40		IV группа n=43		Всего n=220	
	абс.	отн.	абс.	отн.	абс.	отн.	абс.	отн.	абс.	отн.
до 20 лет	4	7,1%	6	8,8%	2	5,7%	4	10%	16	7,3%
20-30 лет	38	60,7%	51	67,6%	13	33,3%	28	65%	130	59,1%
старше 30 лет	20	32,1%	18	23,5%	25	61%	11	25%	74	33,6%

ток наблюдалось снижение массы тела; 76,4% случаев отмечалось нервозность; 70,5% - раздражительность; в 88,2% случаев констатировано учащение сердцебиения; мышечная слабость наблюдалась в 52,9% случаев; с такой частотой встречаемости наблюдалось повышенная потливость. Характерно было и непереносимость жары - 64,7% случаев; дрожание рук - 47%; выпадение волос - 41,2%; выступающий вперед, чрезмерно широко открытые глаза - 52,9% случаев; усиленная перистальтика кишечника - 35,3% случаев. Нарушение менструального цикла наблюдалось в 64,7% случаев; полное отсутствие менструального цикла - 35,3% случаев.

Таким образом, проведенное комплексное клинические и лабораторно-инструментальные исследования еще раз подчеркивают, что гипопаратиреоз или гиперфункция ЩЖ отражается на репродуктивной функции женщины, приводя к снижению фертильности, тем самым способствуют нарушению менструального цикла, овариального резерва, оплодотворения, имплантации.

ВЫВОДЫ:

1) Всем пациенткам с бесплодием необходимо для планирования беременности проводить скрининг-диагностику определения функционального состояния ЩЖ с целью выявления патологии ЩЖ для проведения своевременного и соответствующего индивидуального лечения, а также методов профилактики и предупреждения наступления бесплодия.

2) Выявлена существенная разница в состоянии здоровья пациенток с бесплодием в зависимости от функционального состояния щитовидной железы (манифестная форма гипотиреоза, тиреотоксикоз, обусловленный болезнью Грейвса, аутоиммунный тиреоидит), что диктует проведение индивидуальной коррекции выявленных нарушений с целью предупреждения развития бесплодия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каширова Т.В. Особенности репродуктивной функции женщин с болезнью Грейвса / Автореф. дис... на соиск. уч.ст. канд. мед.наук М., 2008, 25 с.;
 2. Сидорова И.С., Макаров И.О., Боровкова Е.И. Беременность и эндокринная патология / М.: Практическая медицина. 2007, 144 с.;

3. Вспомогательные репродуктивные технологии в Европе (1997). Данные регистров европейских стран, собранные Европейским обществом репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) // Проблемы репродукции. 2001, №4, с. 6-13;
 4. Назаренко Т.А., Перминова С.Г. Современные подходы к диагностике и лечению бесплодия у женщин // Гинекология. 2006, т. 6, №6, с. 323-325;
 5. American Thyroid Association. General Information (2012) /http://www.thyroid.org/thyroid-eventseducation-media/about-hypothyroidism Accessed October 2012;
 6. Beyond Infertility. Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). U.S. Department of Health and Human Services. National Institutes of Health; Eunice Kennedy /http://www.hormone.org/diseases-and-conditions/womens-ealth/polycystic-ovary-syndrome;
 7. Poppe K., Velkeniers B. Female infertility and the thyroid // Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 2004, vol. 18, № 2, p. 153-165;
 8. Poppe K. Thyroid function after assisted reproductive technology in women free of thyroid disease // Fertil. Steril. 2005, vol. 83, p. 1753-1757;
 9. Poppe K. Thyroid disease and female reproduction // Clin. Endocrinol. 2007, vol. 66, p. 309-321;
 10. Prummel M.F., Wiersinga W.M. Thyroid autoimmunity and miscarriage // Eur. J. Endocrinol. 2004, vol. 150, p. 751-755;
 11. Spong C.Y. Subclinical hypothyroidism: should all pregnant women be screened? // Obstet. Gynecol. 2005, vol. 105, p. 235-236;
 12. Stricker R, Echenard M, Eberhart R, et al. Evaluation of maternal thyroid function during pregnancy: the importance of using gestational age-specific reference intervals. // European Journal of Endocrinology. 2007; vol. 157, p. 509-514;
 13. Verberg M.F. Hyperemesis gravidarum, a literature review // Hum. Reprod. Update. 2005, vol. 11, № 5, p. 527-539;
 14. Курбанова Д.Ф. Гусейнова Л.Э. с соавт. Состояние иммунной системы у женщин с бесплодием различного генеза // Ж. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2012, т.11, № 4, с. 37-40.

SUMMARY

The significance role of thyroid pathologies in reproductive system injuries of women with infertility

N.Aliyeva

Azerbaijan Medical University, Baku

Conducted a comprehensive clinical and laboratory and instrumental studies emphasize that hypofunction or hyperfunction of the thyroid gland affects the reproductive function of women, leading to decrease in fertility, thus contributing to disruption of the menstrual cycle, ovarian reserve, fertilization, implantation.

Поступила 01.04.2015

Результаты лабораторно-функциональных методов исследования в диагностике папилломавирусной инфекции у беременных

Н.М.Камилова, С.М. Исмаилова

Азербайджанский медицинский университет, г.Баку

Вирусные инфекции в настоящее время представляют наиболее значимую проблему для здоровья человека, учитывая их большое разнообразие, заболеваемость в любом возрасте и отсутствие средств специфического лечения. В настоящее время одним из приоритетных медико-социальных проблем вошла папилломавирусная инфекция (Human papillomavirus infection (HPV)). Распространенность вируса папилломы человека составляет 45-81% среди девушек 15-29 лет [1, 2, 3].

По данным ВОЗ ежегодно в мире регистрируется более 57 млн случаев вирусных урогенитальных инфекций, из них наиболее частыми является папилломавирусная инфекция [4, 5].

В доступной литературе [6, 7] имеется небольшое количество работ по вопросам современной диагностики и выработки алгоритма обследования при патологии шейки матки у беременных женщин.

Целью данной работы явилась оценка информативности клинических, кольпоскопических, морфологических методов диагностики у беременных с папилломавирусной инфекцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Исследования проводились на базе родильного дома № 1 и женской консультации №6 Министерства Здравоохранения Азербайджанской Республики. С 2009 по 2011 гг в женской консультации на учете состояли 97 654 пациентки, из них 937 беременных.

Наряду с традиционным акушерско-гинекологическим обследованием, все беременные подвергались бактериоскопическому и бактериологическому исследованию вагинального отделяемого, а также диагностическим тестам на наличие сопутствующих инфекций, передаваемых половым путем, УЗИ плода и плаценты, кардиотокографии плода. Пациенткам проводились кольпоскопия и вульвоскопия, цитология мазков-отпечатков из самой шейки матки и соскобов из цервикального канала, гистологическое исследование прицельно взятого биоптата шейки матки (по показаниям) и биопсия вульвы, титрование ВПЧ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Статистическая обработка данных проводи-

лась по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов на нормальность распределения. В зависимости от типа распределения данных достоверность различий между показателями независимых выборок оценивались по непараметрическому U-критерию Манна - Уитни или по t-критерию Стьюдента ($M \pm m$). Статистический анализ осуществлялся в пакете прикладных лицензионных программ "Statistica 6.0", "Microsoft Office 2007" [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Все полученные данные заносились в разработанные нами на каждую пациентку тематические карты.

У 206 (24,5%) беременных было диагностировано ВПЧ-поражение гениталий, причем, его клиническая форма выявлена у 48 (31,6%), субклиническая - 36 (23,7%), латентная - 68 (44,8%) пациенток. Поражение вульвы наблюдалось у 91 (59,9%), поражение шейки матки - 47 (31%), а сочетанное ВПЧ-поражение гениталий - 37 (24,3%) случаях.

Основная группа состояла из 152 беременных. Пациентки основной группы были разделены на 2 подгруппы: в I-ю подгруппу вошло 88 беременных женщин, у которых спустя 6 месяцев после первичного выявления ВПЧ-тестирование высокого риска отрицательное (транзиторное течение ПВИ), во II-ую подгруппу - 64 беременные женщины с персистирующим протеканием ПВИ, у которых вирус выявлялся спустя полгода после первичного обследования (персистирующее течение ПВИ), контрольная группа состояла из 54 беременных без ВПЧ.

Самую многочисленную группу составили беременные женщины в возрасте 20-29 лет: в I-й группе - 56 (63,6%), а во II-ой группе - 37 (57,8%) человек. В социальном статусе беременных с ПВИ (группа II) большое место занимают служащие ($59,4 \pm 6,1\%$) и студенты ($18,8 \pm 4,9\%$), а это достоверно больше, чем среди беременных контрольной группы (соответственно, $33,3 \pm 6,4\%$, $t=2,82$; $p<0,01$; $5,6 \pm 3,1\%$, $t=2,14$; $p<0,05$).

Большая часть беременных основных групп жила в городе (134 человека - 88,2%), а меньшая

- в сельских районах и районных центрах (18 - 11,8%). В контрольной группе также большинство было жительниц города - 48 (88,9%).

У 86,4% (76) беременных I-ой группы и у 84,4% (54), во II-ой группе при сборе анамнеза были выявлены перенесенные в препубертатном и пубертатном периоде инфекционные заболевания. Как известно, вирусные заболевания - наиболее распространенные инфекции детского возраста. Так, в I-ой группе в структуре перенесенных детских инфекций основную часть занимают ветряная оспа, корь, ангина и ОРВИ, а во II-ой - ветряная оспа, ангина и краснуха.

Из экстрагенитальных заболеваний неинфекционной природы диагностировались вегето-сосудистая дистония у 17 (19,3%) женщин в I-ой и у 10 (15,6%), во II-ой группе - миопия (средней и высокой степени) - у 8 (9,1%) и у 5 (7,8%), соответственно. При этом, заметим, что в основных группах данные экстрагенитальных заболеваний достоверно не отличались от таковых контрольной группы ($p > 0,05$).

Следует также подчеркнуть, что в анамнезе у всех пациенток I-ой и II-ой групп наблюдались перенесенные ранее гинекологические заболевания. Самой распространенной и часто выявляемой патологией среди них во всех группах была эрозия шейки матки (1 и 2 группы - 37,5% и 13,0% - в контрольной группе, $p < 0,01$). Важное значение в развитии ВПЧ-поражений шейки матки имеет наличие в анамнезе инфекций, передаваемых половым путем (ИППП). Общеизвестно, что количество сексуально-трансмиссивных заболеваний в анамнезе у женщин с ВПЧ почти в 2 раза выше, чем в популяции. Таким образом, у 83 (94,3%) беременных I-ой и у 61 (95,3%) - II-ой группы в анамнезе имелись сексуально-трансмиссивные инфекции, что в обеих группах достоверно ($p < 0,01$) выше, по сравнению с контрольной группой - 19 (35,2%). Причем, часто встречались вагинальный кандидоз, хламидиоз, генитальный герпес и микоплазмоз.

Таким образом, проведенный клинический анализ свидетельствует о том, что инфицированию ВПЧ наиболее часто подвергаются женщины с неблагоприятным материальным положением и неудовлетворительными жилищными условиями, а также служащие и студентки, а в меньшей степени - социально обеспеченные категории граждан. Наряду с этим, наиболее подвержены папилломавирусной инфекции гениталий также молодые женщины, имеющие в анамнезе медицинские и самопроизвольные аборты, выкидыши, перенесшие те или иные инфекции, переда-

ваемые половым путем.

С целью определения формы папилломавирусной инфекции все женщины с идентифицированным вирусом папилломы человека были подвергнуты клиническим, кольпоскопическому, цитологическому и гистологическому методам исследования.

Клинические формы ВПЧ-поражений наружных половых органов выявлялись с помощью общепринятой методики визуального осмотра. Рутинное обследование шейки матки и влагалища с использованием теста с 3-5% уксусной кислоты и раствором Люголя способствовало выявлению большинства выраженных патологических состояний шейки матки.

Наибольшее внимание уделялось тестированию с помощью метода ПЦР на сексуально-трансмиссивные заболевания. У пациенток основных групп отмечалась тенденция частоты встречаемости хламидийной и герпесвирусной инфекции. Хламидиоз мочеполовой системы и герпес органов гениталий достоверно чаще наблюдался во II-ой группе.

Расширенная кольпоскопия выявила у беременных женщин II-ой группы эктопию, эктропион, нормальную зону трансформации, атипичный эпителий как на, так и вне зоны трансформации. Последний был в виде мозаики, пунктации, уксусно-белого эпителия, лейкоплакии, немых йод-негативных зон. У беременных II-ой группы отмечались кольпоскопические критерии ВПЧ-поражений шейки матки.

У 26 (40,63%) пациенток II-ой группы имелись признаки не резко выраженного воспаления, выразившиеся нечеткостью границ между эпителием, рыхлостью ткани шейки матки. Из них в 9 (14,06%) случаях были кольпоскопические критерии плоскоклеточной метаплазии, определенные нами как нормальная зона трансформации. Во II-ой группе у 50 (78,13%) беременных имела место атипичная зона трансформации. У 19 (29,69%) беременных атипичный эпителий выглядел как мозаика, при этом, на фоне белесых участков эпителия имелись полигональные фигуры с границами розового цвета, разделенные на многоугольники. Проба Шиллера положительная (йод-негативное окрашивание).

Расширенная кольпоскопия выявила у 15 (23,44%) женщин пунктацию в виде белесых участков с выделяющимися на их фоне розовыми точками, выглядевшими при большом увеличении ($\times 50$) в виде "запятых", напоминающих атипичные сосуды. Проба Шиллера положительная. У 9 (14,06%) беременных имелся уксусно-

Таблица 1. Кольпоскопические критерии ВПЧ-поражений шейки матки

Кольпоскопические картины	Группа II (n=64)	
	Абс.	%
Эктопия и эктропион	5	7,81 ± 3,35
Нормальная зона трансформации	9	14,06 ± 4,35
Немая йод-негативная зона	12	18,75 ± 4,88
Мозаика	19	29,69 ± 5,71
Пунктация	15	23,44 ± 5,30
Укусно-белого эпителий	9	14,06 ± 4,35
Лейкоплакия	7	10,94 ± 3,90

белый эпителий, у 7 (10,94%) - признаки лейкоплакии. Йод-негативные участки белого цвета с неровной поверхностью, без сосудов, с границами вне зоны трансформации характеризовали лейкоплакию. Наличие койлоцитоатипии является достоверным признаком ВПЧ-поражений шейки матки (100%). Поэтому морфологическое исследование является самым достоверным методом диагностики при папилломавирусном поражении шейки матки.

Цитологическое исследование мазков-отпечатков с пораженной шейки матки и соскобов цервикального канала способствовало уточнению ВПЧ-поражения шейки матки. Во II -ой группе у беременных женщин с ВПЧ-поражениями шейки матки, в основном, выявились такие цитологические результаты, как: ЦИН 1-2 - у 34 (53,13%), Н-ПИП - у 47 (73,44%), ПАП-1 - у 33 (51,56%) и ПАП-2 - у 20 (31,25%). Реже наблюдались ЦИН 3 - у 8 (12,5%), В-ПИП - у 17 (26,56%) и ПАП-3 - у 11 (17,19%).

Характерным морфологическим признаком папилломавирусного поражения шейки матки является выявление (20 - 31,25% беременных II -ой группы) клеток с различной степенью поражения ядра и перинуклеарной вакуолизацией, называемых койлоцитами. Их ядра неправильной формы, незначительно увеличены, гиперхромны, окружены четкой светлой оптической зоной цитоплазмы с неровными контурами в виде узкого ободка по периферии.

Таким образом, достоверные цитологические критерии папилломавирусного поражения шейки матки наблюдались лишь у 20 (31,25%) беременных II-ой группы. Следовательно, указанный метод не считается диагностически ценным при определении ВПЧ-поражений шейки матки ввиду низкой достоверности цитологических результатов.

Основными морфологическими критериями для постановки диагноза ВПЧ-поражения шейки матки явились гипер-, паракератоз и койлоцитоз. При гистологической диагностике ВПЧ-поражений шейки матки у беременных пациенток чаще других наблюдались койлоцитоз (13-100,0%), акантоз (10-76,92%) и гиперкератоз (9-69,23%).

Проведение исследований по изучению иммунологических особенностей ПВИ у беременных, несомненно, важно при персистирующем течении папилломавирусной инфекции у беременных. С целью определения роли иммунной системы нами были изучены основные параметры клеточного и гуморального звеньев данной системы у пациенток с ПВИ (группы I и II). Здоровые беременные репродуктивного возраста вошли в контрольную группу.

Метод полимеразной цепной реакции проводился нами в сроках 10-14 недель беременности. Определялись 6, 11, 16, 18, 31 и 33 типы вируса ВПЧ. 6 и 11 типы относятся к низкоонкогенным, а 16, 18, 31 и 33 типы - к высокоонкогенным. Поражение гениталий низкоонкогенными типами вируса, как правило, локализуется на наружных половых органах и является клинической формой ПВИ. При инфицировании ВПЧ высокого онкологического риска поражается шейка матки, наблюдается субклиническая форма заболевания.

При изучении гуморальных факторов цервикальной слизи выявлено, что при персистирующем ПВИ организм реагировал подключением гуморальных факторов иммунитета.

Изучение цитокинов профиля цервикальной слизи установило во всех исследуемых группах повышение экспрессии ИЛ-2, что свидетельствует об активации иммунокомпетентных клеток в ответ на ПВИ.

Анализ уровня антител к ВПЧ класса IgG в сравниваемых группах показал, что наиболее вы-

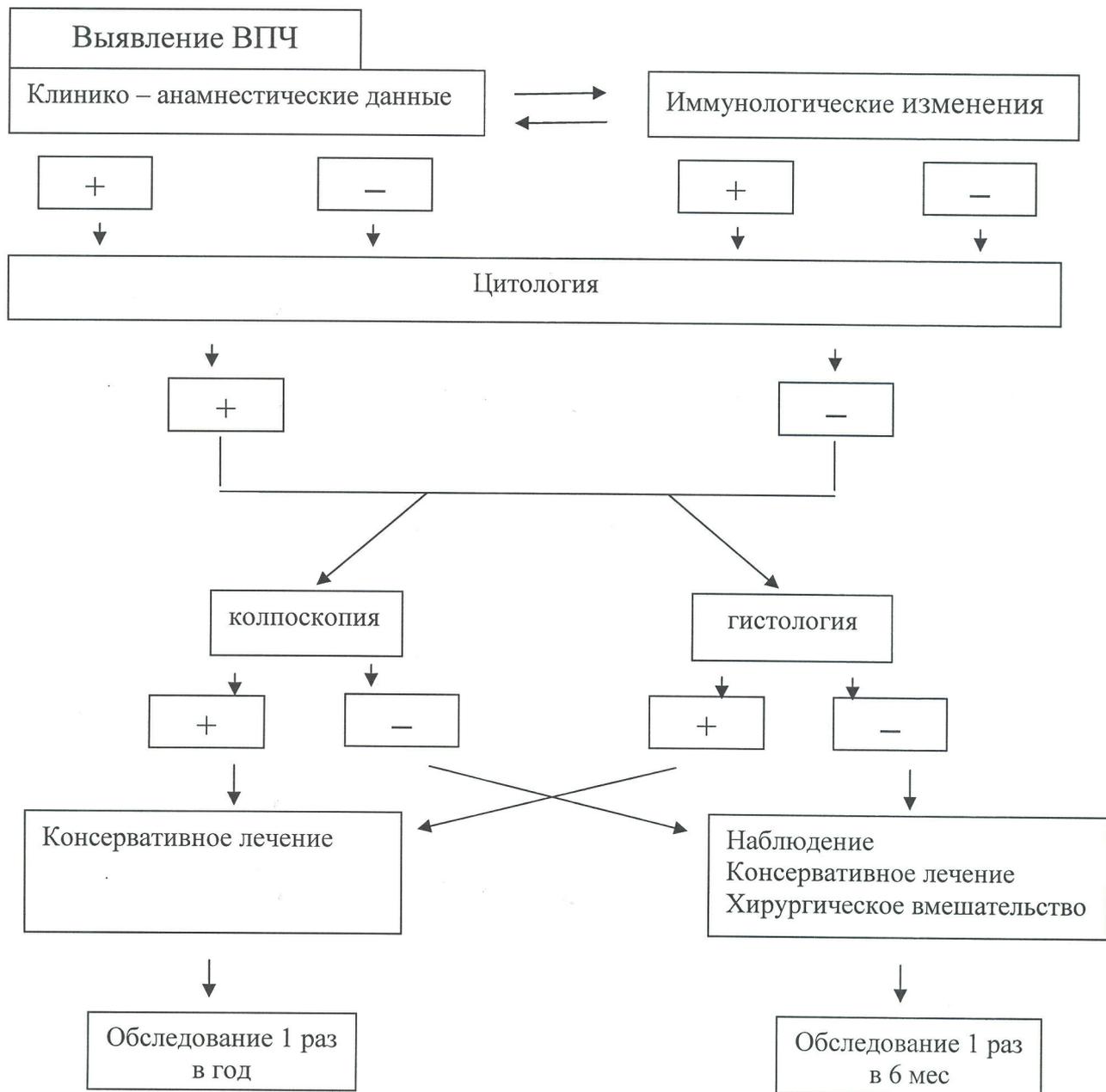


Рис. Алгоритм обследования беременных с папилловиральной инфекцией

сокие их значения (1/800) достоверно чаще ($p < 0,001$) имели место у женщин II-ой группы. Титр антител к ВПЧ 1/200 и менее более часто встречался среди пациенток I-ой и контрольной групп.

ВЫВОДЫ: учитывая полученные данные в результате комплексной клинико-лабораторной диагностики нами разработан алгоритм обследования беременных женщин с папилловиральной инфекцией, включающий одновременную оценку иммунологического исследования, результатов кольпоскопии, цитологии, морфологии.

Качество обследования пациентов играет решающую роль в выборе адекватного лечения и в

исходе заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуменюк Е.Г. Роль вируса папилломы человека в возникновении гинекологической и онкологической патологии // Методические рекомендации. - СПб., 2001. - 6 с.
2. Кубанов А.А. Факторы риска инфицирования вирусом папилломы человека и молекулярные механизмы злокачественной трансформации инфицированных тканей // Вестник дерматологии и венерологии. - 2005. - № 3. - С. 21-24.
3. Шайморданова Г.И., Савичева А.М., Максимов С.Я. Клинические проявления папилломавирусной инфекции гениталий у женщин // Журнал акушерства и женских болезней. - 2001. - № 2. - С. 14-19.
4. Биткина О.А., Овсянникова Р.Д. Заболевания, вызываемые вирусом папилломы человека. Пособие для врачей / Н.К. Нику-

лина // Н.Новгород.: НГМА., 2004. - 36 с.

5. Дмитриев Г.А., Кисилев В.И., Латыпова М.Ф. и др. Проблема ранней диагностики папилломавирусной инфекции // Клиническая дерматология и венерология. - 2006. - № 1. - С. 38 - 43.

6. Кунцевич Л.Д., Никулин Н.К., Шибаева Е.В. Частота выявления вируса папилломы человека различной онкогенности у больных остроконечными кондиломами // Российский журнал кожных и венер. болезней. - 2005. - № 2. - С. 49-53.

7. Huacinte M., Karl R., Coppola D. et al. Squamous-cell carcinoma of the pelvis in giant condyloma acuminatum use ofneoadjuvant chemoradiation and surgical resection: report of a case // Dis. Colon. Rectum. - 1998. -№ 41. -P. 1450-53.

8. Долженков В., Стученков А. Excel-2007. СПб: БХБ-Петербург, 2008, 544с.

SUMMARY

Results of laboratory and functional research methods in the diagnosis of infection in pregnant women with papillomavirus

N.Kamilova, S.Ismaylova

Azerbaijan Medical University, Baku

The aim of this study was to evaluate the clinical information content, colposcopy, morphologically in pregnant women with papillomavirus infection.

Material and methods. The studies were conducted on the basis of the maternity hospital number 1 and the antenatal clinic '6 Ministry of Health of Azerbaijan Republic. From 2009 to 2011, in the antenatal clinic were registered 97,654 patients, of which 937 pregnant women.

Conclusion: Considering the data obtained as a result of a comprehensive clinical and laboratory diagnosis, we developed an algorithm survey of pregnant women with papillomavirus infection involving the simultaneous assessment of immunological research, the results of colposcopy, cytology, morphology.

Quality assessment of patients plays a crucial role in the selection of appropriate treatment and outcome of the disease.

Поступила 03.04.2015

Состояние первичной антибиотикорезистентности *Helicobacter pylori* в Азербайджане

И.Т.Амирасланова, Л.А.Гидаятова, С.С.Джавадов

Азербайджанский медицинский университет, г.Баку

В настоящее время доказано, что доминирующая роль в этиопатогенезе развития хронического гастрита, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, MALT-лимфомы (экстранодальная маргинальной зоны В-клеточная лимфома, ассоциированная со слизистыми оболочками), а также аденокарциномы желудка принадлежит *H.pylori* инфекции. Все эти заболевания являются прямым показанием к проведению эрадикационной терапии, использование которой значительно снижает риск язвенных кровотечений, развития онкологических заболеваний желудка [1]. На сегодняшний день для эрадикации *H.pylori* бактерии используются стандартные рекомендации, принятые Маастрихтским консенсусом IV. Определяющим фактором эффективности предложенных схем эрадикационной терапии Маастрихтских соглашений являются антибактериальные препараты. И поэтому, положительный эффект антимикробной терапии у больных с гастродуоденальной патологией, ассоциированной с хеликобактериозом, в большой степени зависит от резистентности микроорганизма к используемым антибиотикам. При резистентности к антибактериальным препаратам, превышающей 15-20%, эффективность используемых схем антихеликобактерной терапии не может достигнуть приемлемого уровня 85-90% [2]. В схемы эрадикации входит лишь ограниченный набор препаратов, такие как кларитромицин, амоксициллин, метронидазол, тетрациклин, левофлоксацин [3]. Резистентность к *H.pylori* подразделяется на первичную и вторичную. Возникает вопрос, изучен ли уровень антибиотикорезистентности *Helicobacter pylori* в нашем регионе. Необходимость коррекции лечения на основе локальной картины антибиотикорезистентности подчеркивается в Маастрихтском консенсусе III и в положении 7 рабочей версии нового консенсуса (Маастрихт 4), который является основополагающим международным руководством по диагностике и лечению *H. pylori*-инфекции. Эти факты указывают на назревшую необходимость проведения собственных исследований в Азербайджане,

которые позволили бы уточнить уровень резистентности к основным антибактериальным препаратам, используемым в стандартных схемах Маастрихтских рекомендаций.

Цель данной работы получение объективных данных о состоянии первичной антибиотикорезистентности штаммов *H. pylori*, выделенных от пациентов в Баку.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. В исследование включены пациенты поликлиники Учебно-Терапевтической Клиники АМУ.

Критерии отбора пациентов:

1. Пациенты с диагнозами хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки в возрасте 18-60 лет.

2. Пациенты с инфекцией *H.pylori*, подтвержденной быстрым уреазным CLO-тестом гастробиоптата, полученного при проведении эзофагогастродуоденоскопии.

3. Пациенты не получавшие ранее антибактериальную терапию для эрадикации *H.Pylori*.

4. Отсутствие принятия пациентами за последние две недели перед данным исследованием ингибиторов протонной помпы и препаратов висмута.

5. Пациенты, не принимающие какую-либо антибактериальную терапию на момент забора гастробиоптата.

В качестве материала для исследования использованы гастробиоптаты пациентов с положительным быстрым уреазным тестом - использовался CLO-тест. Во время эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) производился забор биоптатов из антрального отдела и из тела желудка для бактериологического исследования. Биопсийный материал помещался в пробирку типа "эппендорф" с бульоном бруцеллы (*Brucella* broth, OXOID, U.K.) и транспортировался из эндоскопического кабинета в микробиологическую лабораторию в течение 20-30 минут. Затем биоптаты гомогенизировались.

Для выделения *H. pylori* использовались два метода: классическое культивирование и микрокаплярный метод.

При классическом культивировании за основу питательной среды для выделения и культивирования *H. pylori* использовался колумбийский агар COS с 5% бараньей кровью и бруцелла агар, CAMP агар (OXOID, U.K.). Каждый из биопсийных образцов высевался параллельно на две чашки Петри с агаром, со-

держащим антибиотики в следующих концентрациях: ванкомицин в концентрации 10 мг/л, 10 мг/л амфотерицин В, 5 мг/л цефсулодин и 5 мг/л триметоприм.

Инкубация посевов осуществлялась в микроаэрофильных условиях (O_2 11%, CO_2 9%, N_2 80%). Для этого были использованы анаэроостаты системы GasPac100 с газогенерирующими пакетами типа GasPak (BBL CamryPak Plus Microaerophilic System envelopes with Palladium Catalyst). Посевы инкубировали в термостате при температуре $+37^\circ C$ и влажности 95%. Учет результатов посева проводили через 3 суток. При отсутствии признаков роста инкубацию продлевали до 10 суток.

Микрокапиллярный метод проводился следующим образом, после обработки хроматом калия в течение часа для получения гладкой поверхности микрокапиллярные трубки промывались дистиллированной водой и подвергались стерилизации в печи Пастера при $180^\circ C$ в течение одного часа. Затем их заполняли 60 мкл гомогенизированными образцами и закрывали с обоих концов стерильным силиконом. Капиллярные трубки инкубировались в течение 48 часов при $37^\circ C$ без подачи CO_2 . После инкубации гомогенизированные образцы из микрокапиллярных трубок в стерильных условиях были инокулированы на готовый селективный агар, содержащий колумбийский агар, 10% дефибринированную лошадиную кровь, 10 мг/л ванкомицина, 10 мг/л флуконазола, 5 мг/л стрептомицина. Затем полученная среда инкубировалась при температуре $37^\circ C$ в микроаэрофильных условиях в CO_2 -инкубаторе в течение 12-24 часов.

При получении роста колоний от первичного посева биопсийного материала, сходных по морфологии с *H. pylori*, подтверждалась принадлежность выделенной культуры к роду *H. pylori* путем окраски мазка по Граму и биохимическими тестами - уреазным, каталазным и оксидазным. Штаммы хранились при температуре $-70^\circ C$ в пробирках с триптиказо-соевым бульоном (BioMerieux, Франция) с добавлением 30% стерильного глицерина (Sigma, США).

Исследование чувствительности *H. pylori* проводили в соответствии с рекомендациями Института по клиническим и лабораторным стандартам США (CLSI) диско-диффузионным методом (Kirby Bauer) в катион-сбалансированном агаре Мюллера-Хинтон (BBL, США), обогащенном 5% лошадиной кровью. Для приготовления инокулюма использовали двухдневную культуру *H. pylori*, разведенную 3-5 мл стерильного физиологического раствора до достижения плотности, эквивалентной стандарту мутности 2 по McFarland (DEN-1 McFarland Densitometr, BIOSAN, Латвия) с непосредственной инокуляцией чашек. В результате диффузии антибиотика в агар происходило формирование зоны подавления роста *H. pylori* вокруг дисков. Инкубацию чашек проводили 72 ч в микроаэрофильных условиях (GEN box microaer) при температуре $+37^\circ C$. Для чашек с метронидазолом осуществляли предварительную инкубацию в течение 24 ч в анаэробных условиях. После окончания инкуба-

ции отмечали чашку с концентрацией антибактериального препарата, вызывающей полное подавление роста микробов. Контроль чистоты роста культуры оценивали по посеву на чашку Петри с селективной кровяной средой без добавления антибиотиков. Определялась чувствительность *H. pylori* к амоксициллину, кларитромицину, левофлоксацину, тетрациклину и метронидазолу. Данный метод позволил подразделить штаммы *H. pylori* на чувствительные и резистентные.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. В исследовании использовались гастробиоптаты 103 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет. У пациентов были диагностированы различные заболевания, ассоциированные с *H. pylori*, такие как хронический гастрит $37,8 \pm 4,8\%$ ($n = 39$), язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (ДПК) $39,8 \pm 4,8\%$ ($n = 41$) и язвенная болезнь желудка $22,3 \pm 4,1\%$ ($n = 23$).

Инфицирование *H. pylori* было подтверждено у всех пациентов быстрым уреазным CLO-тестом. Бактериологическим методом микроорганизм выделен лишь у 52 пациентов, что составило $50,5 \pm 4,9\%$. Такой процент отражает технические трудности, связанные с транспортировкой и культивированием микроаэрофильного микроорганизма.

Чувствительность *H. pylori* к антимикробным препаратам удалось определить у 41 штаммов, выделенных микрокапиллярным методом. Выделить культуру *H. pylori* методом классического культивирования не удалось. Из-за скудного роста культуры в 11 случаях оценить антибиотикограмму было невозможно.

Таким образом, в анализ резистентности были включены 41 штаммов хеликобактера, выделенных от 41 пациентов. Среди анализируемых изолятов *H. pylori* штаммов, 23 ($56,1 \pm 7,8\%$) были резистентны к метронидазолу, 6 ($14,6 \pm 5,5\%$) - к кларитромицину, 1 ($2,4 \pm 2,4\%$) - к тетрациклину, 10 ($24,4 \pm 6,7\%$) - к левофлоксацину. Кроме того, был выявлен 1 ($2,4 \pm 2,4\%$) штамм, устойчивый к амоксициллину. В случаях выявления резистентности к двум и более группам антимикробных препаратов, штамм хеликобактера относили к полирезистентным. В ходе исследования 5 ($12,2 \pm 5,1\%$) штаммов микроорганизма были полирезистентными. Двойная резистентность к кларитромицину и метронидазолу обнаружена у 1 ($2,4 \pm 2,4\%$) изолята, метронидазолу и левофлоксацину - у 4 ($9,8 \pm 4,6\%$) микроорганизмов (табл.).

Начало нового века ознаменовалось возникновением проблемы, уже давно обозначившейся при терапии других инфекций, проблемы развития устойчивости *H. pylori* к антимикробным пре-

Таблица. Уровень первичной резистентности *H. pylori* при тестировании 41 биоптатов

Антибактериальный препарат	Количество штаммов	
	абс.	%
резистентны к метронидазолу	23	56,1±7,8
резистентны к кларитромицину	6	14,6±5,5
резистентны к тетрациклину	1	2,4±2,4
резистентны к левофлоксацину	10	24,4±6,7
резистентны к амоксициллину	1	2,4±2,4
полирезистентность (=2)	5	12,2±5,1

паратам. Эффективность эрадикационной терапии должна быть не менее 80%. Успех антихеликобактерной терапии напрямую коррелирует с резистентностью *H. pylori* к антибактериальным препаратам, предложенных в рекомендациях Маастрихтского консенсуса IV (2010 г.). Она варьирует в различных регионах мира от 30 до 90% [4]. В различных странах мира в результате проведения многоцентровых исследований установлен разный уровень резистентности *H. pylori* к антибиотикам, в частности к кларитромицину. Уровень резистентности *H. pylori* к кларитромицину в популяции является определяющим фактором при выборе схемы эрадикации [5]. Как и все патогенные микроорганизмы, штаммы *H. pylori* имеет свои региональные особенности резистентности. В целом, резистентность *Helicobacter pylori* к кларитромицину возрастает пропорционально его потреблению в данном регионе и в общем в различных странах мира она варьирует от 2% до 35%. В последние годы отмечается неуклонный рост числа резистентных к кларитромицину штаммов *H. pylori*, что связано, по всей вероятности, с широким применением этого антибиотика для лечения респираторных инфекций, а также с частым использованием макролидов при лечении других заболеваний [6].

Резистентность *H. pylori* к метронидазолу колеблется от 20 до 40% в Европе и США, но она значительно выше в развивающихся странах (50-80%) [7]. Причиной этого является широкое использование производных нитроимидозолов для лечения урогенитальных и других инфекций и неадекватное использование их в схемах эрадикационной терапии [8].

На сегодняшний день в мире не было установлено четкого роста резистентности *H. pylori* к амоксициллину, что делает его ключевым препаратом в схемах ЭТ [9,10, 11]. Так, в Европе уровень резистентности *H. pylori* к амоксициллину держится на стабильно низком уровне и не превышает 1%. И опять таки, сравнивая со странами

Европы, в ряде стран Африки и Азии были выявлены более высокие показатели резистентности к амоксициллину, в частности в Камеруне - 85,6% (95% ДИ: 76,9-91,5) и в Тайване - 36,1% (95% ДИ: 27,9-44,2) [12]. При высоком уровне резистентности микроорганизма к макролидам и нитроимидозолам Европейской группой по изучению *H. pylori* в качестве альтернативы рекомендуется использование схем на основе левофлоксацина. Однако имеются сообщения, указывающие на рост резистентности *H. pylori* к данному препарату в последние годы за счет большого потребления фторхинолонов. Резистентность *H. pylori* к антимикробным препаратам фторхинолонового ряда в Европе составляет 24,1% (95% ДИ: 20,7-27,4), что выше по сравнению со странами Азии, где этот же показатель составляет 11,6% (95% ДИ: 9,5-13,7). Однако в странах Азии показатели резистентности значительно варьируют от 2,6% (95% ДИ: 0,3-4,8) в Гонконге до 14,9% (95% ДИ: 11,8-18,0) в Японии [12].

По всей видимости, резистентность к тетрациклину формируется крайне медленно, иначе, учитывая то, что тетрациклин много лет используется в висмут-содержащих эрадикационных схемах, рост резистентности давно бы проявился клинически в виде ухудшения результатов эрадикации. В целом резистентность *H. pylori* к тетрациклину в мире находится на низком уровне. В мире обнаружены лишь единичные штаммы, устойчивые к этому препарату [13]. Первые штаммы *H. pylori*, резистентные к тетрациклину, были обнаружены в Австралии [14].

Определении чувствительности *H. pylori* к антибиотикам связано с определенными трудностями, такими как правильный отбор биопсийных образцов, транспортировка материала в лабораторию, наличие навыков работы с его чистой культурой, соблюдение лабораторных стандартов по определению уровня резистентности *H. pylori* к антибиотикам. Для интерпретации показателей резистентности используются современные

стандартизированные методы. Это методы серийных разведений (в агаре и бульоне, метод микроразведений), диффузионные (дискодиффузионный метод и метод Е-тестов) и молекулярные методы. В нашем исследовании использован дискодиффузионный метод. Этот метод является наиболее простым, удобным и широко используемым при рутинном микробиологическом исследовании чувствительности. Он основан на регистрации диаметра зоны подавления роста микроорганизма вокруг бумажного диска с антибиотиком. В определенных пределах величина диаметра зоны подавления роста пропорциональна величине минимально подавляющей концентрации (МПК), поэтому дискодиффузионный метод позволяет косвенно судить о ее величине. Данный метод позволяет подразделить штаммы на чувствительные и резистентные. Оценка результатов проводится с использованием критериев интерпретации, разработанных на основе корреляции значений диаметров зон подавления роста и МПК антибиотика [15].

Учитывая объективные сложности, описанные выше, данное исследование ограничено относительно небольшим числом наблюдений - 41 чистых культур микроорганизма. Безусловно, для разработки региональных протоколов ведения пациентов требуется дальнейшее изучение состояния антибиотикорезистентности *H. pylori*. Однако в ходе исследования выявлено, что уровень первичной резистентности *H. pylori* к кларитромицину составляет $14,6 \pm 5,5\%$. Такой показатель устойчивости позволяет использовать кларитромицин в стандартной тройной терапии. Кроме того, левофлоксацин по результатам данного исследования (уровень резистентности $24,4 \pm 6,7\%$) не может быть рекомендован в нашем регионе как альтернатива кларитромицину. Согласно рекомендациям Маастрихтского консенсуса IV в стандартной тройной терапии, амоксициллин может быть заменен на метронидазол, а также в качестве терапии первой линии может быть использована "последовательная терапия", куда включен метронидазол. Наше исследование выявило высокий уровень резистентности $56,1 \pm 7,8\%$ к метронидазолу у штаммов выведенных от наших больных, что существенно может снизить эффективность предложенных схем. Обнадуживающим остается показатель уровня резистентности *H. pylori* $2,4 \pm 2,4\%$ к тетрациклину, который может быть использован, как альтернативный амоксициллину антибиотик при непереносимости больными пенициллина в эрадикационной терапии.

ВЫВОДЫ:

На основании проведенного бактериологического исследования антибиотикорезистентности штаммов *H. pylori* можно сделать следующие выводы.

1. Хеликобактер является труднокультивируемым микроорганизмом. Для повышения чувствительности бактериологического метода требуется максимально четкое соблюдение протоколов методики работы с биоматериалом.

2. Выявлен высокий уровень резистентности *H. pylori* к метронидазолу ($56,1 \pm 7,8\%$), что ставит под сомнение использование схем с присутствием метронидазола в качестве терапии первой линии.

3. Левофлоксацин при выявленной $24,4 \pm 6,7\%$ резистентности не может быть рекомендован в нашем регионе как альтернатива кларитромицину.

4. Уровень первичной резистентности *H. pylori* к кларитромицину в ходе проведенного исследования составил $14,6 \pm 5,5\%$, что не должно существенно снизить эффективность стандартной тройной терапии.

5. Тетрациклин и амоксициллин с невысоким уровнем резистентности ($2,4 \pm 2,4\%$) могут быть использованы в схемах эрадикационной терапии, предложенных консенсусом Маастрихт 4.

ЛИТЕРАТУРА

- Исаева Г.Ш. Антибиотикорезистентность // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2010.-N 1.- С.57-66.
- Graham D. Y., Lee Y. C., Wu M. S. Rational Helicobacter pylori therapy: evidence-based medicine rather than medicine-based evidence // Clin Gastroenterol Hepatol. 2014; 12: 177-186
- Дехнич Н. Н., Захарова Н. В., Кузьмин-Крутецкий М. И. и др. Резолюция экспертного совещания "Тактика ведения пациента с инфекцией Helicobacter pylori. От простого к сложному" // Клин. микробиол. и антимикробная хим. 2014. Т. 16. № 3. С. 176-180.
- Саблин О.А., Ильчишина Т.А. Проблема резистентности Helicobacter pylori к кларитромицину // Гастроэнтерология, 2009, с.4-8.
- Лазебник Л. Б., Рустамов М. Н. Резистентность к кларитромицину при эрадикации НР у больных дуоденальной язвой // Тез. докл. XII съезда Научного общества гастроэнтерологов России "Классическая и прикладная гастроэнтерология" 2012 г. М., 20.
- Romano M., Iovene M.R., Russo M.I. et al. Failure of first-line eradication treatment significantly increases prevalence of antimicrobial-resistant Helicobacter pylori clinical isolates // J Clin Pathol 2008; 61:1112-5.
- Megraud F., Coenen S., Versporten A. et al. Helicobacter pylori resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption // Gut. - 2013. - Vol. 62, № 1 - P.34-42.
- Кудрявцева Л.В. Биологические свойства Helicobacter pylori // Альманах клинической медицины, 2006 - Т. XIV. - С. 39-46.
- Iwanczak F., Iwanczak B. Treatment of Helicobacter pylori infec-

tion in the aspect of increasing antibiotic resistance // *Adv Clin Exp Med*. 2012; 21 (5): 671-680.

10. Megraud F. Antimicrobial Resistance and Approaches to Treatment. In: Sutton P., Mitchell H. M., eds. *Helicobacter pylori in the 21 st Century* // Wallingford, UK: CABI; 2010

11. Wu W., Yang Y., Sun G. Recent Insights into Antibiotic Resistance in *Helicobacter pylori* Eradication // *Gastroenterol Res Pract*. 2012; 723183.

12. De Francesco V., Giorgio F., Hassan C. et al. Worldwide *H. pylori* antibiotic resistance: a systematic review // *J Gastrointestin Liver Dis*. 2010; 19 (4): 409-414.

13. Midolo P.D., Korman M.G., Tumidge J.D., Lambert J.R. *Helicobacter pylori* resistance to tetracycline // *Lancet*. 2006, Apr 27; 347 (9009): 11945.

14. Megraud F. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics: prevalence, mechanism, detection. What's new? // *Helicobacter pylori. Basic Mechanisms to Clinical Cure*. - 2002. - P. 363-373.

15. "Макролиды в современной клинической практике" Л.С.Страчунский, С.Н.Козлов, 1999.

SUMMARY

The condition of the primary antibiotic resistance *Helicobacter pylori* in Azerbaijan
I.Amiraslanova, L.Hidayatova, S.Javadov
Azerbaijan Medical University, Baku

The effectiveness of the eradication therapy in patients with gastroduodenal pathology associated with *Helicobacter pylori* infection, mainly depends on the resistance of microorganisms to used antibiotics. The recommendations of the Maastricht consensus IV consist of limited set of antibacterial medicine such as clarithromycin, amoxicillin, metronidazole, tetracycline, levofloxacin. The article presents the results of a study on antibiotic resistance strains of *Helicobacter pylori*, isolated from patients in Baku.

Поступила 05.04.2015

Сахарный диабет в сочетании с метаболическим синдромом - одна из основных проблем современной эндокринологии

Г.А.Исмаилова

Бакинский центр здоровья, г.Баку

Во всем мире сахарный диабет 2-го типа обуславливает очень высокие показатели инвалидизации и смертности. В связи с чем, разработка и внедрение в практику новых тактических подходов в лечении, формировании профилактических, реабилитационных программ имеет первостепенное значение для здравоохранения большинства высокоразвитых стран.

Вышесказанное свидетельствует о том, что обсуждаемая патология является большой медико-социальной задачей, от решения которой зависят прогностические показатели частоты развития фатальных и не фатальных осложнений, сохранения или потери людских ресурсов.

Особенно это важно для стран, находящихся под воздействием внешней агрессии, что требует более значительной консолидации усилий не только медицинских, но и государственных учреждений.

ООН (2008 г.) призвала руководства большинства стран мира сформулировать для общества ориентиры в виде национальных программ по первичной и вторичной профилактике СД 2-го типа [1].

Известно, что на сегодняшний день во всем мире около 400 миллионов человек страдает СД 2-го типа и их число, по прогнозам IDF к 2035 году может возрасти до 600 миллионов [2].

Не менее важным для понимания общегосударственного значения проблемы является то, что СД 2-го типа преимущественно поражает лиц, так называемого, трудоспособного возраста. Следовательно, на первый план выдвигаются не только чисто медицинские, но и медико-социальные проблемы, что тяжким бременем ложится на плечи населения в целом, т.к. растут отчисления по временной утрате трудоспособности, растет объем недоданной продукции и т.д. [3].

Общие негативные моменты в отношении сахарного диабета 2-го типа не должны скрывать значение частных вопросов, которые возникают по мере изучения эпидемиологии обсуждаемой нозологической формы.

Согласно современных данных, касающихся механизмов формирования СД 2-го типа, их имеется два, а именно, инсулинорезистентность на уров-

не периферической мышечной ткани организма, и второе - поражение бета-клеток островков поджелудочной железы. Преимущество одного из механизмов не имеет принципиального значения для течения СД 2-го типа. Общеизвестно, что наличие инсулинорезистентности без клинических проявлений может иметь место долгие годы и только впоследствии привести к формированию СД 2-го типа. [4].

В этом случае организм не может преодолеть инсулинорезистентность своими силами и это свидетельствует о том, что поджелудочная железа не способна в полной мере компенсировать недостаток инсулина, развивается гипергликемия.

На заре человечества инсулинорезистентность представляла собой положительный фактор, помогавший выжить человеку в условиях голода и стресса. На современном этапе этот процесс стал носить отрицательный характер, и способствует формированию патологических состояний, таких, как СД типа 2, ожирение и сердечно-сосудистая патология [5].

Не менее важной проблемой для большинства высокоразвитых стран, на сегодняшний день, стал, так называемый, метаболический синдром, сопровождающийся не менее значительными изменениями в организме человека, чем при наличии СД 2-го типа [6].

Характерной чертой, объединяющей СД 2-го типа с МС является то, что в основе МС, как и СД 2-го типа имеет место наличие инсулинорезистентности на уровне периферической мышечной ткани.

Исследования, проведенные в отношении выяснения этиологии и патогенеза МС позволили установить то, что при формировании этого синдрома большое значение принадлежит таким факторам риска, как низкая физическая активность (НФА), избыточная масса тела (ИМТ) и наследственная отягощенность по СД. Эти факторы риска являются причиной развития инсулинорезистентности на уровне периферической мышечной ткани и далее гипергликемии и гиперинсулинемии [7].

Влияние гиперинсулинемии на организм разнообразно и заключается в формировании патогенетических механизмов, имеющих место при

таких патологических процессах, как сердечно-сосудистый, гипергликемический, гипертонический и дислипидемический.

Концепция о метаболическом синдроме (МС) была сформирована за последние три десятилетия. Это, в определенной степени, обуславливает сосуществование таких факторов, как например, артериальная гипертония, сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца, нарушения в липидном обмене. Их часто характеризуют, учитывая их негативное влияние на здоровье человека, как "смертельный квартет" [8].

Эксперты международных эндокринологических организаций рассматривают МС, как сочетание нарушений в гормональной, метаболической и клинической сферах, что приводит к развитию сердечно-сосудистой патологии, в основе которой имеют место инсулинорезистентность и гиперинсулинемия.

Таким образом, очевидно, что патогенетические механизмы, лежащие в основе формирования метаболического синдрома и сахарного диабета 2-го типа идентичны друг другу. Поэтому их можно рассматривать одновременно, как два патологических состояния, схожих друг с другом и отягощающих друг друга [9].

МС и СД многие считают состояниями эквивалентными ИБС. Появившаяся на первом этапе инсулинорезистентность в начале формирует комплекс метаболических нарушений, что приводит к функциональным расстройствам и изменению морфологии тканей, органов и систем, в особенности, сердечно-сосудистой системы. Последовательность метаболических изменений обусловлена наличием основного звена в этой цепи инсулинорезистентности. В последующем на первое место, как при МС, так и СД 2-го типа, выдвигается гипергликемия, с ее "глюкозотоксическим" влиянием, оказываемым на органы и ткани. Влияние гипергликемии обуславливается не только вышесказанным, помимо этого она стимулирует аутоиммунные реакции с образованием антител. Гипергликемия инициирует нарушение осмотического равновесия между биологическими средами, формирует дефицит энергетических субстратов [10].

На обмен липидов инсулин влияет активнее чем на обмен углеводов, поэтому МС и СД типа 2 обусловлены значительными нарушениями в липидном обмене.

Нарушения липидного обмена, в большинстве своем, представлены гипертриглицеридемией, а также гиперхолестеринемией липопротеидов низкой плотности (ХСЛПНП), и снижением показателей ХСЛПВП. Вышесказанное является причиной

ускоренных темпов развития атеросклероза. Помимо этого нарушения в липидном обмене обуславливают развитие оксидативного стресса, усиленным спазмом сосудов, повреждением клеточных мембран и органелл, а так же гиперкоагуляцией [11].

С вышесказанным тесным образом связана усиленная склонность к тромбообразованию. В этом процессе активную роль играет ТхА2, влияние которого обусловлено усилением агрегации тромбоцитов. Повышенное содержание фактора Виллебранда способствует усилению адгезивной способности тромбоцитов. В конечном итоге весь этот процесс гиперкоагуляции завершается тромбозами сосудов разного калибра [5].

Не менее важное значение при метаболических нарушениях у лиц с СД 2-го типа и МС имеет нарушение в белковом обмене. Нарушение липидного обмена представлено повышением в крови уровня α 2-глобулина, гаптоглобинов, С-реактивного белка, фибриногена, гемоцистеина [12].

Гемоцистеин - на сегодняшний день, признан, как один из основных ФР для ИБС. Гемоцистеин оказывает разнообразное влияние на организм, а именно, усиливает эндотелиальную дисфункцию, а так же оксидативный стресс, ускоряет адгезию и агрегацию тромбоцитов, увеличивает скорость атеросклеротического повреждения сосудистой стенки.

Инсулинорезистентность увеличивает гиперинсулинемию, что приводит к нарастанию массы жировой ткани, она же усиливает эндотелиальную дисфункцию, посредством увеличенной секреции вазоконстрикторов (эндотелин-1, ангиотензин), но подавляя вазодилататоры (NO, PqJ2). Под воздействием гиперинсулинемии развивается ремоделирование сердца и сосудов. Таким образом, при данной патологии имеет место многофакторная ее природа, что обуславливает полиорганность поражения [13].

Вследствие вышесказанного, при СД 2-го типа, такие заболевания, как АГ, коронарная и цереброваскулярная болезнь встречаются намного чаще, чем в популяции. У больных СД 2-го типа ИБС протекает более тяжело и имеет плохой прогноз. Причиной тому является: 1) периферический тип поражения сосудов; 2) "диабетическая кардиомиопатия"; 3) диабетическая кардиальная вегетативная нейропатия.

У больных СД 2-го типа проявлением автономной нейропатии является "атипичная стенокардия" или "безболевого инфаркт миокарда".

Важно отметить, что наличие при МС и СД 2-го типа безболевого стенокардии ассоциируется с высоким риском внезапной смерти вследствие

фибрилляции желудочков. Выявление лиц с ИБС при наличии МС и СД 2-го типа сложная, но очень важная задача, требующая немалых усилий.

В соответствии с результатами ряда исследований, присутствие МС у больного СД 2-го типа, увеличивает риск развития патологии сердца и сосудов в 2-4 раза, а также смертность [11].

Все вышеизложенное свидетельствует о том, что сочетание МС и СД 2-го типа, весьма неблагоприятным образом сказывается на формировании патологии со стороны сердечно-сосудистой (в первую очередь) и других систем организма.

Основные осложнения СД 2-го типа - это микро- и макроангиопатии. Поэтому их профилактика занимает ведущее место в повседневной деятельности специалистов, осуществляющих контроль над пациентами, страдающими СД 2-го типа.

Так например, коррекция артериальной гипертензии у лиц с СД 2-го типа сопровождается эффективным фактором снижения сердечно-сосудистого риска у этих больных [5].

Совершенно очевидно, что проблем в области лечебной тактики у больных СД 2-го типа очень много. Они, в основном, сопряжены с адекватной коррекцией гипергликемии, не сопровождающейся какими-либо побочными явлениями со стороны жизненно важных органов и систем. Т.е. лечебная тактика, в первую очередь, должна быть безопасной и эффективной. Препараты, используемые при лечении СД 2-го типа, должны быть метаболически нейтральными, т.к. изменения именно в этом смысле, присутствуют как при формировании СД 2-го типа, так и МС. В отношении МС надо отметить то, что и у него в основе патологических нарушений лежит все та же инсулинорезистентность и гиперинсулинемия со всеми вытекающими отсюда патологическими нарушениями, требующими адекватной коррекции.

Применение современных гипогликемических препаратов с инкретиновым механизмом действия, во-первых, это совершенно новый подход в лечении СД 2-го типа, во-вторых, это отсутствие побочных эффектов, в-третьих, отсутствие влияния на показатели, нивелирующие эффект препарата [14].

Решение проблемы, связанной с СД 2-го типа в сочетании с МС заключается в поиске и внедрении в практику препаратов, положительным образом влияющих на метаболические процессы в организме или же не имеющие такого влияния. Только в этом случае мы сможем рассчитывать на положительные результаты в решении этой проблемы, обусловленной наличием у пациентов СД 2-го типа сочетания с метаболическим синдромом.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization (2008): Health for all database: <http://data.enro.who.int/hfad>.
2. IDF Diabetes Atlas Sixth Edition Update, International Diabetes Federation, 2014.
3. Standards of Medical Care in Diabetes Care 2015; 38 (Supplement 1) : s1-s.93.
4. Reaver G. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes, 1988; v.37: p.1595-1607.
5. Amori R.E., Lau I., Pittas A.C. Efficacy in type 2 diabetes. Systemic review and meta analysis. JAMA 2007; 298: p.194-206.
6. Lakka H.V., Laaksanen D.E.. The metabolic syndrome and total cardiovascular disease mortality in middle-age men. JAMA, 2002; vol. 288: 27: p.2079-2118.
7. Unger R.H., Eisentraut A.V. Enter insular axis Arch. J. intern. Med. 1969; v.123: p.261-265.
8. Borona E., Kiechl S., Willet J et al. Prevalence of insulin resistance in metabolic disorders. The Brunneck Study. Diabetes 1998; v.47, p.1643-1648.
9. Bonner-Weir S. Life and death of the pancreatic cells. Trend's Endocrinol. Metab. 2000; v.211, p.375-378.
10. Tuomilehto J.L., Lindstrom J., Erisson J. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes of life style among subjects with impaired glucose tolerance. W. Engl. Journal Medicine. 2001; №344 p.1343-1350.
11. Lorder D. Importance of cardiovascular disease risk management in patients with type 2 diabetes mellitus. Diabetes Metab. Syndr. Obes 2014; 7: p.169-183.
12. Trujillo V.E., Schaefer P.E. Adiponectin. Journey from an adipocyte secretory protein to a biomarker of the metabolic syndrome. J. Intern. Med 2005 -
13. Терещенко И.В. Эндокринная функция жировой ткани. Проблемы лечения ожирения. Клиническая медицина 2002; № 7: с.9-14.
14. Дедов И.И., Шестакова М.В. Инкретины: новая веха в лечении сахарного диабета 2-го типа. - М.: Дипак, 2010. - 92 с.

SUMMARY

Diabetes mellitus in combination with metabolic syndrome-one of the main problem of modern endocrinology

G.Ismailova

Baku Health Center, Baku

Diabetes mellitus Type II (DM2) is one of the most important problems of the public health in most highly developed countries for today. Combination of DM2 and metabolic syndrome (MS) worsens the course of mentioned pathological processes to a considerable extent. Mutual is that in both cases it's based on insulin resistance, hyperinsulinemia and hyperglycemia which have a negative impact on cardiovascular system by means of metabolic disorders.

In the article the problems of the medical tactics on DM2 in case of its combination with MS were summarized. Necessity of use of the remedies, efficiency and safety of which were proven, which haven't got any side effect by the some organs and systems and which are neutral on organism in general, was proven.

Поступила 25.04.2015

Сравнительная оценка фактического и стандартного объема врачебной помощи рекреантам

А.Р.Агасиев

Азербайджанский Государственный институт усовершенствования врачей имени А.Алиева, г.Баку

Одним из новых направлений развития санаторно-курортной службы является внедрение в работе рекреационных учреждений стандартов обследования, лечения и обслуживания пациентов. Стандартизация объема услуг в санаторном бизнесе предназначена для урегулирования взаимоотношений потребителей и поставщиков, что характерно для рыночной экономики. Внедрение стандартов санаторно-курортной помощи в системе Акционерного общества "Курорт" показало, что из-за отсутствия в них прямых показаний для назначения тех или иных лечебных методов воздействия не всегда удается гарантировать стандартные объемы услуг [1-4]. Причем эффективность санаторно-курортного лечения формируется не воздействием отдельных лечебных методов, а комплексными факторами, которые имеют как специфические, так и не специфические механизмы. Основой санаторно-курортной помощи является врачебные приемы и консультации, где определяется тактика лечения в санаториях. В стандартах санаторно-курортной помощи представлена частота врачебных приемов и консультаций по основной патологии у рекреанта. В настоящее время в большинстве санаторно-курортных учреждениях даже при их специализации по различным профилям (кардиологический, неврологический, гастроэнтерологический, урологический и прочие) получают санаторно-курортную помощь пациенты с несколькими патологиями для которых утверждены разные стандарты. Так, например, стандарты санаторно-курортной помощи при артериальной гипертензии предусматривает неоднократный осмотр пациентов врачом невропатологом. В кардиологическом санатории, где часто лечатся пациенты с артериальной гипертензией, в штате должность врача невропатолога не предусмотрена. Это свидетельствует о необходимости пересмотра штатных нормативов санаторно-курортных учреждений в соответствии с требованиями стандартов санаторно-курортной помощи. Целью нашего исследования явилась сравнительная оценка фактического и стандартного объема врачебной помощи рекре-

антам в специализированных санаторно-курортных учреждениях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. *Исследование проводилось на базе кардиологического (Бильгя), неврологического (Гюнешли), урологического (Гарангуш), гастроэнтерологического (Абшерон), костно-мышечного и артрологического (Шых и Нафталан) профиля санаторий Акционерного Общества (АО) "Курорт" Азербайджанской конфедерации профсоюзов. Основными документами для оценки адекватности должностей врачей явились штатные расписания этих санаторий. По стандартам санаторно-курортной помощи определялась частота необходимых осмотров и консультаций врачей-специалистов. По документам санаторно-курортных учреждений определялась частота фактических осмотров врачами специалистами больных с определенными патологиями. Статистическая обработка материалов наблюдения проводилась методами анализа качественных признаков [5].*

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Штаты должностей врачей-специалистов лечебного профиля в санаториях АО "Курорт" приведены в таблице 1.

В санатории Бильгя лечатся рекреанты с патологиями: кардиальный невроз, артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, хронические ревматические болезни сердца. Стандарты санаторно-курортной помощи при этих патологиях предусматривает осмотр пациентов врачами кардиологами и невропатологами. В штате этого санатория не предусмотрена должность врача невропатолога.

Санаторий Абшерон (гастроэнтерологический) принимает на лечение пациентов с патологиями желудка и двенадцати перстной кишки, желчного пузыря, желчных путей, печени и поджелудочной железы, а также с сахарным диабетом. Стандартом санаторно-курортной помощи при сахарном диабете предусмотрен осмотр пациентов врачом эндокринологом, который в штате санаторий Абшерон не имеется.

Штаты врачей специалистов относительно удачно подобраны в санаторий неврологического профиля (Гюнешли), где предусмотрена долж-

Таблица 1. Штаты должностей врачей лечебного профиля в санаториях АО "Курорт"

Санатории	Кардиологи ческий (Бильгя)	Неврологический (Гюняшли)	Урологический (Гарангуш)	Шых	Гастроэнтерологический (Абшерон)	Нафталан (поликлиника)
Кардиолог	5,5	1,0		0,5		
Терапевт				1,0		0,5
Невропатолог		6,0		1,0		
Уролог			1,5			
Ортопед (артролог)				1,0		
Дерматолог						0,5
Акушер-гинеколог	0,5				0,5	1,0
Отоларинголог						1,0
Стоматолог					0,5	1,5
Педиатр						1,0
Физиотерапевт	0,5	0,5		1,0		
Гастроэнтеролог			0,5		4,0	

ность врачей невропатолога и кардиолога. В этом учреждении успешно могут получать лечение рекреанты с отдельными заболеваниями сердечно-сосудистой и нервной системы.

Состав врачебных должностей в санаториях Шых и Нафталан сравнительно широкий, имеются должности врачей кардиолога, терапевта, невропатолога, ортопеда (артролога), физиотерапевта, дерматолога, акушер-гинеколога и стоматолога, что позволяет выполнять требования стандартов санаторно-курортной помощи для различных нозологических форм.

Сравнительные данные о стандартной и фактической частоты осмотров рекреантов врачами-специалистами приведены в таблице 2. Стандарт санаторно-курортной помощи больным с повышенным давлением предусматривает первичный и повторный осмотр пациентов врачом невропатологом. Участие кардиолога в осмотрах пациентов с артериальной гипертензией в санаториях не предусмотрено стандартом. Фактически при лечении этих больных в кардиологическом санатории, где не имеется в штате должности невропатолога, пациентов осматривает только лишь врач кардиолог. При лечении в неврологическом санатории пациентов с артериальной гипертензией имеется реальная возможность для соблюдения требований стандарта санаторно-курортной помощи. В итоге в системе АО "Курорт" на одного рекреанта с артериальной гипертензией в течение курса лечения приходится 1,2 осмотра врачом кардиологом и 3,8 - врачом невропатологом. Сходная ситуация сложилась в отношении пациентов с ишемической болезнью сердца, цереброваскулярной болезнью и расстройствами вегетативной нервной системы.

В санаториях урологического, гастроэнтерологического и костно-мышечного профилей шта-

ты должностей врачей специалистов соответствуют требованиям стандартов санаторно-курортной помощи пациентам с болезнями органов пищеварения, мочеполовой системы и костно-мышечной системы. Поэтому в этих санаториях фактическое участие врачей специалистов в осмотре рекреантов соответствует стандартам санаторно-курортной помощи.

Штаты должностей врачей-специалистов для санаторно-курортных учреждений были введены до утверждения стандартов санаторно-курортной помощи. Поэтому ныне существующие штаты должностей врачебного персонала в санаториях не гарантируют выполнение требований стандартов санаторно-курортной помощи в полном объеме. Кроме того, даже в специализированных санаториях (кардиологический, неврологический, гастроэнтерологический, урологический и прочие) получают помощь больные с различными нозологическими формами, для которых существуют разные стандарты санаторно-курортной помощи. Следовательно, для успешного выполнения основных требований стандартов санаторно-курортной помощи, которое является обязательным условием взаимоотношений между потребителями и поставщиками услуг при рыночной экономике и коммерческой деятельности, необходимо адаптировать штаты рекреационных учреждений с учетом новой ситуации. Данные приведены в таблице 2 могут быть использованы для предварительного расчета ожидаемого объема работы врачей специалистов в каждом санатории с учетом нозологической структуры патологий у вероятных рекреантов. Это позволит формировать новые штатные расписания в пределах фонда оплаты труда и гарантировать выполнение стандартных программ санаторно-курортной помощи.

Таблица 2. Стандартная (в скобке) и фактическая частота (в расчете на 1 пациента) осмотров врачей-специалистов

Услуги	Осмотр кардиолога	Осмотр невропатолога	Осмотр гастроэнтеролога	Осмотр ортопеда	Осмотр уролога
Болезни рекреантов					
Артериальная гипертензия	(0) 1,2	(2) 3,8	-	-	-
Ишемическая болезнь сердца	(2) 4,8	(0) 0,4	-	-	-
Цереброваскулярная болезнь	(0) 1,0	(2) 3,8	-	-	-
Расстройство вегетативной нервной системы	(0) 0,4	(2) 3,6			
Болезни органов пищеварения	-	-	(2) 3,5	-	-
Болезни мочеполовой системы	-	-	-	-	(2) 3,4
Болезни костно-мышечной системы	-	-	-	(2) 3,6	-
Поражение нервов, нервных корешков и сплетений	-	(2) 4,7	-	-	-

ВЫВОДЫ:

1. Штаты должностей врачей специалистов в санаторно-курортных учреждениях не достаточно адекватны для выполнения требований стандартов санаторно-курортной помощи.

2. При обосновании штатных расписаний санаторно-курортных учреждений следует учитывать перечень основных нозологических форм, показанных для лечения в конкретной санатории, а также нормативы осмотров (консультаций) врачами специалистами в течение всего срока лечения рекреантов.

3. Адаптация структуры штатных расписаний требованиям стандартов санаторно-курортной помощи возможно в пределах фонда оплаты труда без изменений себестоимости услуг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агасиев А.Р. Роль стандартизации санаторно-курортной помощи больным в неврологическом санатории // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. Москва, 2014, №3, с. 18-22.
 2. Агасиев А.Р. Об эффективности санаторно-курортной помощи при расстройствах вегетативной нервной системы // Журнал Неврологии и Психиатрии им. С.С. Корсакова. Москва, 2014, №7, ст. 49-52.
 3. Агасиев А.Р. О стандарте санаторно-курортной помощи больным с ишемической болезнью сердца // Общественное здоровье и здравоохранение. Казань, 2014, №1, с. 68-73.

4. Агасиев А.Р. Оценка эффективности стандарта санаторно-курортной помощи больным с сахарным диабетом // Проблемы стандартизации в здравоохранении. Москва, 2014, №5-6, с. 65-68
 5. Стентон Г. Медико-биологическая статистика. Москва, Практика. 1999. 459 с.

SUMMARY

Comparative assessment of the actual and standard volume of medical assistance to recreants

A.Agasiyev

A.Aliyev's Institute of Physicians Improvement, Baku

The purpose of the study was estimate compliance with standards of given medical assistance to recreants connected with using the sanatorium help.

It was established that the number of doctors specialists of sanatorium institutions doesn't allow full support of the survey and consultation intended in standards of the sanatorium help. It is shown that transition to standards of the sanatorium help requires changes in staff lists of those institutions. It is considered that changes of staff lists according to standards won't demand additional resources as they are not the quantitative, but high-quality changes.

Поступила 30.04.2015