

**СОДЕРЖАНИЕ**  
**журнала "БИОМЕДИЦИНА"**  
**№ 2, 2006 год**

**Обзоры**

*М.К.Мамедов, А.А.Кадырова*

**3** Птичий грипп: от эпидемий к пандемии

*Ф.Р.Исрафилбейли*

**10** Современные лабораторные маркеры переносимости беременности

**Оригинальные статьи**

*А.Б.Гасанов, Э.К.Агаев*

**15** Морфологические изменения в органах иммунной системы в постреанимационном периоде и в условиях интенсивной терапии

*М.З.Дадашов*

**20** Влияние дефицитных вариантов альфа-1 антитрипсина

*Л.З.Ахмедова, Н.Н.Фейзуллаева*

**23** Патогенез и лечение артериальной гипертонии у детей с гломерулонефритом

*А.З.Абышев, Э.М.Агаев, А.А.Абдулла-заде*

**27** Гетеровир-ГА - новый иммунобиологический препарат для диагностики и количественной оценки вирусных антигенов

**Краткие сообщения**

*А.И.Гурбанов*

**31** Обсемененность внутренних органов белых мышей при экспериментальных инфекциях, вызванных микроорганизмами, отличающимися по содержанию антиоксидантных ферментов

**История биомедицины**

**34** К двадцатилетию создания рекомбинантной вакцины против гепатита В

**CONTENTS**  
**"BIOMEDICINE" journal**  
**№ 2, 2006**

**Reviews**

*M.Mamedov, A.Kadyrova*

**3** Avian influenza: from epidemics to pandemic

*F.Israfilbayli*

**10** The modern biochemical markers of postdates pregnancy

**Original articles**

*A.Gasanov, E.Agayev*

**15** Morphological changes in organs of immune system in postreanimation period in conditions of intensive therapy

*M.Dadashov*

**20** Influence of deficient variants of alpha-1 antitrypsin on disease incidence

*L.Akhmedova., N.Feyzullayeva*

**23** Pathogenesis and treatment of arterial hypertension at children with glomerulonephritis

*A.Abishev, E.Agayev, A.Abdulla-zadeh*

**27** Heterovir-HA - new immunobiological preparation for diagnostic and quantitative estimation of viral antigens

**Brief communications**

*A.Qurbanov*

**31** The contamination of internal organs of mice at the experimental infections caused by microorganisms with different antioxidant enzymes

**History of biomedicine**

**34** To 20-th anniversary of recombinant hepatitis B vaccine carrying out

# ОБЗОРЫ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

## Птичий грипп: от эпидемий к пандемии

М. К. Мамедов, А. А. Кадырова

Международная Экоэнергетическая Академия,  
Азербайджанский медицинский университет, г. Баку

Почти полвека назад было установлено, что возбудителями инфекционного заболевания домашних птиц, давно известного фермерам как "куриная чума", являются некоторые интенсивно циркулирующие среди диких птиц штаммы вируса гриппа типа А. Однако, эти инфекции, объединяемые под общей рубрикой "птичий грипп" (ПГ), не считаясь опасными для человека, оставались в круге интересов лишь ветеринаров, вплоть до 1997 г., когда в Гонконге были отмечены первые случаи заболевания ПГ среди людей.

За минувшие с того времени 9 лет число заболевших ПГ в мире приблизилось к двумстам (в начале текущего года единичные случаи заболевания ПГ были зарегистрированы и в нашей стране). Это, в условиях продолжающегося распространения по многим странам эпизоотий ПГ, послужило поводом для все возрастающей обеспокоенности мирового сообщества по поводу возможности глобального распространения нового, достаточно опасного для человека заболевания.

Комментируя сложившееся положение, ряд авторитетных исследователей высказали предположение о том, что в определенной ситуации вирусы ПГ (ВПГ) могут, изменив свои первоначальные свойства, обрести способность передаваться от человека к человеку воздушно-капельным путем, как и вирусы гриппа человека. В таком случае, в условиях отсутствия соответствующих вакцин и достаточно эффективных средств лечения ПГ, человечество окажется перед серьезной угрозой возникновения пандемии ПГ и ее катастрофическими последствиями глобального масштаба - по прогнозам ученых, во время такой пандемии могут погибнуть от 5 до 150 млн человек.

И, несмотря на то, что вероятность обретения вирусами ПГ такой способности пока остается незначительной, полностью исключить ее нельзя. К примеру высказано мнение о том, что в 2003 г. в Индонезии уже имели место единичные случаи заболевания ПГ людей, которые, возможно, заразились от больного человека.

С учетом исключительной медико-социаль-

ной важности корректного прогнозирования дальнейшего распространения инфекции, вызванной ВПГ, мы попытались представить в данной публикации основные доводы, позволяющие оценить реальные шансы развития эпидемического процесса, риск возникновения новой пандемии гриппа и роль основных факторов, потенциально способных повлиять на характер этих процессов и их возможные последствия.

До обсуждения этих вопросов следует остановиться на трех, весьма существенных в данном контексте фактах, рассмотрение которых поможет глубже понять сущность процессов, способствующих возникновению пандемии.

Во-первых, согласно современным представлениям, основными природными "хозяевами" всех известных ныне подтипов вируса гриппа типа А являются дикие водоплавающие птицы, осуществляющие сезонные трансконтинентальные миграции. Инфицируясь друг от друга по "цепочке", дикие птицы играют роль естественного резервуара вирусов, обеспечивающего их продолжительную циркуляцию в популяции птиц и сохранение в природе в течение неопределенно продолжительного времени. Кроме того, в период перелетов птицы переносят эти вирусы на огромные расстояния с континента на континент.

Во-вторых, как и все ортомиксовирусы, ВПГ отличаются выраженными потенциальными к постоянному изменению свойств. В процессе многократного повторения цикла "птица - вирус - птица" ВПГ претерпевают фенотипическую и, главное, генотипическую (мутационную и рекомбинационную) изменчивость, направление которой в итоге определяет характер эволюции этих вирусов.

Следует особо подчеркнуть, что решающую роль в эволюции вирусов гриппа, отличающихся фрагментированным геномом, играет процесс обмена геномными фрагментами как между штаммами одного и того же вируса, так и между разными вирусами этого семейства. Этот процесс, называемый реассортацией, будучи одним из вариантов рекомбинационной изменчивости, приводит к образованию дочерних вирионов с новыми наборами геномных фрагментов. Разумеется, что реассортация свой-

ственна только вирусам с фрагментированным геномом и возможна при одновременном инфицировании клетки двумя вирусами или двумя разными штаммами одного вируса.

Наиболее отчетливо процесс изменчивости выражается в изменении антигенных свойств ВПГ, связанных с изменением специфичности гемагглютинаина (H) и нейраминидазы (N). Эти изменения могут проявляться в виде дрейфа (небольшие изменения в структуре H и N) и шифта (сдвига), при котором изменения этих структурных элементов оболочки вирионов весьма значительны.

В-третьих, доказано, что, несмотря на наличие у вирусов гриппа четко определенного круга основных природных хозяев, это ограничение носит полигенный характер, и эти вирусы в определенных условиях способны инфицировать некоторых млекопитающих (свиней, лошадей и др.), обретая таким образом аберрантных (нетипичных) хозяев. В частности, уже давно известно, что выделенные птицами ВПГ могут инфицировать свиней, которые восприимчивы как к человеческому, так и к птичьему вирусам гриппа и которым в настоящее время отводится не последняя роль в сохранении и эволюции гриппозных вирусов.

Итак, из изложенного очевидно, что ПГ все еще остается зоонозом, и реальность случаев передачи ВПГ от человека к человеку пока не доказана. По мнению эпидемиологов, вовлечение человека в эпизоотический процесс является случайным и его заражение ВПГ возможно только при прямом контакте с птицами или их экскрементами. Это позволяет полагать, что в настоящее время возможность возникновения значительных по численности заболеваний среди людей остается небольшой.

Однако, если ВПГ все же обретут способность напрямую передаваться от человека к человеку и, прежде всего, респираторным путем, то опасность широкого распространения ПГ многократно возрастет, а угроза развития пандемии ПГ действительно станет реальной.

Оценивая опасность такой трансформации ВПГ, не следует упускать из виду существование принципиальной возможности обретения ВПГ способности передаваться от человеку к человеку. На это с определенностью указывает тот факт, что ВПГ уже не раз преодолевали межвидовой барьер контагиозности, инфицируя новых хозяев - млекопитающих. Вопрос состоит лишь в том, смогут ли эти вирусы обрести способность передаваться респираторным путем - тем путем, посредством которого распространялись вирусы гриппа, вызвавшие в свое время пандемическую заболеваемость.

Объективной оценке опасности возникновения пандемии ПГ помимо представленных выше фактов поможет краткий экскурс в историю распространения вирусного гриппа на протя-

жении XX в. Рассматривая пандемию как комплекс значительных по численности заболевших и протекающих в одно и то же время (на протяжении 1-2 лет) эпидемий, охватывающих два и более континентов, можно считать, что в XX в. в мире были отмечены 3 пандемии.

Первая охватила Евразию, Африку и Америку в период 1918-1920 гг: необычайно тяжело протекавший грипп унес, по разным оценкам, от 20 до 50 млн жизней. Закрепившееся за ним название - "испанский" грипп или "испанка" возникло случайно - первые сообщения о нем появились в Испании (информация о гриппе в странах, участвовавших в 1-й мировой войне, была запрещена военной цензурой). Эта пандемия началась в Китае, а позднее выяснилось, что вызвавший ее вирус имел формулу H1N1, и он циркулировал среди людей еще около 10 лет (именно его Р.Шоуп выделил от свиньи в 1931 г).

Вторая пандемия также началась в Китае в 1957 г., и на двух континентах распространился "азиатский грипп", вызванный менее вирулентным, по сравнению с возбудителем "испанки", вирусом с формулой H2N2, обусловившим гибель более 700 тыс человек, в основном, на территории США.

В 1968-1969 гг. была отмечена третья пандемия среднего по тяжести "гонконгского гриппа", возбудителем которого стал распространившийся из Китая вирус А (H3N2), циркуляция которого не прекратилась до сих пор. Тогда инфекция поразила не менее 1 млрд человек, хотя заболевания были менее тяжелыми, нежели при "испанке" - возможно, из-за наличия иммунитета к нейраминидазе (N2), которая присутствовала у возбудителя предыдущей пандемии, и небольшому промежутку времени, прошедшему со времени предшествующей пандемии.

И, наконец, в 1977-1978 гг. была отмечена относительно легкая по степени тяжести заболеваний, но крупная по масштабу эпидемия "русского" гриппа (вирус был впервые идентифицирован в СССР), вызванная "возвратившимся" в людскую популяцию (скорее всего, от животных) вирусом с формулой H1N1. В этой эпидемии в первую очередь пострадали лица, родившиеся после 1950 г., вероятно, в силу того, что этот вирус ранее (в конце 40-х гг.) уже вновь циркулировал среди людей и вызывал небольшие эпидемии.

Основываясь на этих исторических примерах, можно заключить, что пандемии гриппа возникали в среднем три-четыре раза в столетие, когда появлялись новые подтипы вируса, быстро распространявшиеся от человека к человеку.

При этом, однажды появившись и распространившись, каждый новый субтип вируса гриппа циркулирует среди людей в течение целого ряда лет, успевая за это время "постареть". За этот же период в составе человеческой популяции возрастает доля лиц, уже перенесших инфекцию

и потому ставших невосприимчивыми к повторному заражению данным штаммом вируса. Выражаясь образно, можно сказать, что "иммунологический пресс", в роли которого выступает нарастание величины иммунной к данному штамму вируса прослойки населения, как бы "вытесняет" из нее "старые" штаммы, тем самым, освобождая эту нишу для "новых" штаммов вируса. Именно поэтому, исчезновение из человеческой популяции "старых" штаммов происходит параллельно с появлением в ней "новых" штаммов этого вируса.

В дальнейшем эти же процессы могут обусловить и уже имевший место феномен "возвращения" ранее циркулировавших "старых" штаммов вируса гриппа - за несколько десятилетий появляется, во-первых, целое поколение людей, иммунная система которых "не знакома" с этими штаммами, а, во-вторых, у лиц, много лет назад перенесших инфекцию, напряженность иммунитета ослабевает.

Однако, остается без ответа вопрос об источниках этих вирусов. Разумеется, можно было бы предположить, что вирусы более 20 лет сохранялись в замороженном виде до момента их "возвращения" каким-то образом в человеческую популяцию, но в этом случае не произошло бы существенного изменения "законсервировавшихся" вирусов. Между тем, "новые" вирусы гриппа всегда имели четкие отличия по антигенной специфичности от циркулировавших до их появления "старых" штаммов.

Поэтому большинство ученых единодушны в мнении о том, что важнейшая роль в распространении и сохранении ортомиксовирусов в природе на протяжении межэпидемических (межпандемических) периодов принадлежит именно птицам. Более того, высказаны серьезные доводы в пользу гипотезы о том, что вирусы гриппа "перешли" к человеку именно от птиц.

Еще до 1997 г. специалисты американского Центра по контролю за заболеваниями (CDC) пришли к выводу, что возбудителем "испанки", скорее всего, был мутировавший вирус ПГ.

Недавно были завершены исследования, проведенные американскими биологами Гарвардского университета совместно с лондонскими вирусологами из Национального института медицинских исследований, которые из фрагментов легочной ткани эксгумированных трупов американских солдат, погибших от "испанки" в 1918 г. и похороненных в условиях вечной мерзлоты на Аляске, выделили, а затем детально изучили РНК вируса "испанки".

Из РНК был изолирован ген Н, при клонировании которого было получено достаточное для анализа количество соответствующего белка. Кристаллы последнего были подвергнуты рентгеноструктурному анализу, позволившему устано-

вить трёхмерную структуру белка. Оказалось, что по своей структуре этот протеин значительно ближе к гемагглютинуину ВПГ, чем к таковому вируса гриппа человека, т.е. гемагглютинин вируса "испанки" изменился незначительно по сравнению с тем, каким он был в составе оболочки ВПГ.

Такого незначительного изменения структуры белков оболочки вируса оказалось достаточно для обретения ВПГ способности, преодолевая межвидовой барьер, вызывать тяжелое заболевание у людей.

Эти данные и результаты молекулярно-филогенетического анализа степени дивергенции антигенных сайтов Н в ходе дрейфа вируса за последние после пандемии 15 лет позволили считать, что вызвавший ее вирус человеческого гриппа произошел от ВПГ, который, преодолев видовой барьер, адаптировался к организму человека. При этом, адаптация была обеспечена за счет либо последовательных мутаций гена Н, либо путем реассортации, происшедших незадолго до начала "испанки".

В этих же исследованиях выяснилось, что высокая смертность испанского гриппа была, скорее всего, связана с присутствием в его РНК гена уникального белка, обладающего выраженными иммуно-супрессивными свойствами. Этот ген отсутствовал в геноме вирусов гриппа человека и, скорее всего, был заимствован возбудителем "испанки" у ВПГ. Этот факт также подтверждал обоснованность мнения о том, что "испанский" вирус эволюционировал из ВПГ, становясь еще одним аргументом в пользу гипотезы о "птичьем" происхождении вирусов гриппа человека.

Обобщение результатов этого молекулярно-эволюционного изучения вируса "испанки" продемонстрировало, что, обретая пандемические свойства, вирус H1N1 "прошел" тот же путь, по которому сейчас "идет" вирус H5N1 и который вполне может привести к появлению высоковирулентного для человека вируса, способного вызвать многочисленные жертвы среди людей.

Признавая решающую роль птиц в распространении гриппозных инфекций, следует коснуться и вопроса - каким образом птичьи вирусы проникают в популяцию людей?

В этой связи, уместно вспомнить отмеченную многими исследователями закономерность - все известные до сих пор пандемии гриппа (включая документированную пандемию, разразившуюся в 1889-1890 гг.) начались в Китае. Более того, именно здесь возникали ежегодные "волны" инфекции, "прокатывающиеся" по многим странам Евразии в форме сезонных вспышек гриппа в конце зимы - начале весны.

По всей вероятности, этому способствовали высокая плотность населения, большой процент сельских жителей и, соответственно, людей, занятых разведением домашних птиц и животных.

Отметим, что традиционным для сельских районов Китая является совместное содержание домашней птицы (в основном, уток) и свиней - днем они могут находиться и питаться в одном загоне. Утки могут заражаться ПГ от диких мигрирующих птиц, а сами, в свою очередь, могут инфицировать не только друг друга, но и свиней.

Остается еще один вопрос - что способствовало тому, что ВПГ обрели потенции к инфицированию людей?

Согласно доминирующей ныне концепции, появление штаммов ВПГ, способных инфицировать людей, может стать результатом эволюции самих вирусов, и в первую очередь, "адаптивной" изменчивости их биологических и, прежде всего, антигенных свойств. Поэтому для того, чтобы ответить на поставленный выше вопрос, следует детальнее остановиться на особенностях изменчивости ВПГ и на основных факторах, способных оказывать на нее то или иное влияние.

Изменчивость вирусов гриппа в первую очередь фенотипически выражается в изменении первичной структуры молекул Н и N, от особенностей которых зависит целый ряд важных свойств вирусов, в том числе, их способность к "специфической трансмиссивности" - свойство, отражающее легкость и быстроту передачи вируса посредством преимущественного в эпидемиологическом отношении пути (в данном случае, респираторного) в пределах популяции одного вида организмов-хозяев.

Приобретение ВПГ способности передаваться от человека к человеку может осуществиться благодаря появлению на их поверхности новых Н и N, характерных для человеческого вируса, поскольку именно Н (и, в меньшей степени, N) обеспечивают специфическую рецепторно опосредованную адсорбцию вируса на поверхности клетки и его проникновение в нее и, соответственно, определяют восприимчивость организма человека к вирусу.

Такая возможность с наибольшей вероятностью осуществима посредством антигенного шифта, который в этом случае будет играть роль механизма преодоления видоспецифического барьера и обретения специфической трансмиссивности ВПГ в отношении человека, которой эти вирусы пока не обладают. Высказано мнение о том, что для появления у вируса способности заражать человека достаточно сравнительно незначительных изменений в структуре Н и N.

Такой шифт может быть результатом как мутаций, так и рекомбинаций генов в пределах генома самого вируса, однако в его формировании наиболее значимой считается реассортация ВПГ и вирусов человеческого гриппа, сводящаяся к гибридизации их геномов.

Реассортация, как уже отмечалось, становится возможной лишь в ситуации, когда одни и

те же клетки одновременно (или последовательно) инфицируются двумя разными штаммами вируса гриппа. В этих случаях "потомство" вирусов может унаследовать геном, сформированный различными комбинациями фрагментов, полученных от "родительских" вирусов. Теоретически число таких комбинаций, которые могут сформировать полный геном при конкурентной инфекции, превышает 2 тысячи, однако лишь небольшая часть вирусов-реассортантов обладает таким сочетанием генов, которое позволяет им преодолевать межвидовой барьер и, адаптируясь в новых условиях, эффективно репродуцироваться.

Ясно, что подобная ситуация может возникнуть в случаях, когда двумя (человеческим и птичьим) вирусами инфицируются птицы или люди. То же самое может произойти, если в эпизодический процесс будут вовлечены другие виды, и прежде всего, домашние животные. Подобная возможность отнюдь не исключается, поскольку, как уже отмечалось, ВПГ могут инфицировать аберрантных хозяев.

Более того, вероятность реассортации значительно возрастает при смене хозяев, и в первую очередь, аберрантных для ВПГ, среди которых в данном контексте важная роль отводится свиньям, которые могут инфицироваться как птичьим, так и человеческим гриппом.

Высказано мнение о том, что при многократном "перемещении" ВПГ от диких птиц к домашним птицам и свиньям создаются условия, способствующие образованию разных по свойствам вирусов-реассортантов, среди которых могут оказаться штаммы, обладающие способностью напрямую инфицировать человека от человека.

Все это с определенностью указывает на то, что неоднократно воспроизводимая в лабораторных условиях адаптация вирусов к новому хозяину нередко происходит и в природе. Это создает условия для последующей эволюции вирусов в популяции новых хозяев и закономерно повышает их биологическую адаптивность к новым условиям.

Разумеется, что процессы микроэволюции происходят и в процессе циркуляции ВПГ в популяции диких птиц - вступая в близкий контакт друг с другом, они могут неоднократно "обмениваться" между собой различными штаммами гриппозных вирусов, что создает условия для обмена генетической информацией между разными штаммами. Вместе с тем, роль этих процессов в эволюции ВПГ ясна не до конца.

Так, результаты изучения филогенеза ВПГ показывают, что в процессе миграции птиц между Евразией и Америкой (миграция по широте) не происходит существенного изменения их свойств, в то время, как процессы, происходящие при перелете птиц с Севера на Юг (миграция по долготе), вносят решающий вклад в процесс эволю-

ции этих вирусов.

Дикие птицы, делая при длительных перелетах кратковременные остановки, в том числе, в водоемах, где регулярно бывают домашние водоплавающие птицы, контаминируют вирусами водоемы и, вступая в контакт с домашними птицами, инфицируют их ВПГ. Остановившись вблизи ферм с открытыми источниками корма для домашних животных, дикие птицы могут загрязнять фураж и территорию и, тем самым, становиться источником заражения домашних птиц. Авирулентные для диких птиц вирусы, при этом, зачастую оказываются высокопатогенными для домашних птиц. Прежде считалось, что скорость эволюции ВПГ в организме основных природных хозяев, как правило, выше, чем в организме аббертантных хозяев. Однако, во время отмеченных за последние годы эпизоотий ПГ ее скорость у домашних птиц оказалась такой же, как и у диких птиц. Это указывает на то, что ВПГ уже адаптировались к новым видам хозяев.

Значение отмеченных выше генетических процессов, которые могут, протекая в организме основных и аббертантных хозяев, привести к возникновению у животных новых, патогенных для человека штаммов ВПГ, в определенной степени ограничивается тем, что ПГ среди инфицированных животных протекает с высокой смертностью (у наиболее чувствительных видов - например, у кур и индеек, может погибать до 90-100% инфицированных особей).

Осознание процессов, лежащих в основе вспышек ПГ в 1997-2004 гг в Гонконге, и выделение ВПГ у ряда аббертантных хозяев и человека, позволяет представить альтернативные возможности для возникновения нового пандемического вируса.

В частности, именно во время этих вспышек была подтверждена реальная возможность не только одновременного инфицирования птиц и свиней двумя вирусами ПГ, но и процесса обратного перемещения ВПГ от домашних птиц и свиней к диким птицам, а затем вновь к домашним птицам, свиньям и людям. При этом создаются почти идеальные условия для "смешивания" генетического материала двух вирусов и для генерации множества разных по свойствам реассортантов. Среди "двойных" или "тройных" реассортантов вполне могут оказаться и такие, которые будут обладать свойствами, потенциально способными обеспечить возможность напрямую инфицировать людей от человека.

Иначе говоря, исходя из результатов уже проведенных наблюдений и лабораторных исследований, можно сделать вывод о том, что домашние животные вообще способны играть роль биологической системы, циркуляция ВПГ в которой может завершиться появлением нового реассортантного вируса гриппа, аналогичного вирусам, вызвавшим в свое время тяжелые пандемии гриппа.

Здесь же нельзя не отметить, что, помимо названных выше, существуют и другие, по сути, эпигенетические возможности обретения ВПГ способности передаваться от человека к человеку.

Так, частицы ВПГ, проникшие в организм человека от птицы, могут фагоцитироваться клетками крови и репродуцироваться в них - если при выходе потомства из этих клеток вирионы "захватят" и включат в состав суперкапсида рецепторы клеточной мембраны, то их аффинность к клеткам человека может повыситься, что обеспечит им в дальнейшем возможность проникать в другие человеческие клетки посредством рецепторного механизма. И, наконец, нечто подобное может произойти при первичном инфицировании ВПГ иммунокомпromетированного человека, в организме которого адаптация вируса к новому хозяину существенно облегчается.

Изложенные выше факты и суждения позволяют сформировать определенную позицию, находясь на которой удастся более или менее объективно оценить вероятность возникновения новой пандемии гриппа, вызванной ВПГ.

При этом, однако, необходимо учитывать и важнейшие особенности сложившейся ныне эпидемиологической ситуации в мире и наиболее опасном в отношении ПГ его регионе - Юго-Восточной Азии.

Основными потенциальными источниками возбудителя ПГ для человека остаются популяции домашних птиц. Главной особенностью сложившегося ныне положения является то, что патогенный для человека штамм ВПГ уже успел широко распространиться среди домашней птицы по всей Азии, и поэтому локализовать эпизоотию, уже успевшую принять характер панзоотии, стало гораздо сложнее. Основной реально действенной, но, по существу, вынужденной мерой борьбы с инфекцией, несмотря на значительные экономические издержки, остается полное уничтожение всего поголовья домашней птицы.

Несмотря на то, что в ряде азиатских стран и во всех странах Евросоюза усилены меры безопасности на птицефермах, возможно, что полностью остановить дальнейшее распространение инфекции в ближайшее время не удастся. Тогда вероятность контактов человека с инфицированными птицами останется высокой, а риск прямой передачи ВПГ людям будет увеличиваться.

Более того, распространение ВПГ перелетными птицами продолжается, на что указывают многочисленные документированные находки мертвых диких птиц, инфицированных ВПГ. В их числе есть и мигрирующие птицы, не относящиеся к традиционным хозяевам (ястребы, попугаи, дикие лебеди и др.). Практикуемый в некоторых странах отстрел перелетных птиц может привести к изменению привычных маршрутов миграции птиц и, тем самым, вызвать не только экологичес-

кие сдвиги, но и расширить географические масштабы эпизоотии ПГ и ареал циркуляции ВПГ. Основные отличительные особенности ВПГ, выделенных в 1997-2005 гг, сводятся к тому, что они стали более вирулентными (на это указывает необычно большое количество погибшей домашней птицы) и обрели способность преодолевать межвидовой барьер от птиц к человеку (об этом свидетельствуют случаи заболевания людей) и к свиньям (случаи инфицирования свиней штаммом H5N1 сравнительно недавно выявлены во Вьетнаме).

Наряду с этим, распространению ВПГ могут способствовать и тесные социально-экономические связи и интенсивные международные пассажирские и грузовые перевозки между разными странами мира посредством скоростных видов транспорта. В этом смысле поучительными являются два случая.

В 2004 г. Англию из Южной Америки в составе крупной партии птиц был завезен попугай, инфицированный штаммом H5N1. Птица погибла в период карантина уже в Англии, что хорошо демонстрирует значение системы карантинных мероприятий вообще.

Второй случай произошел в 2001 г., когда в мясе уток, импортированном из Китая в Северную Корею, был выделен ВПГ субтипа H5N1 (20). Этот факт указывает на опасность международных поставок контаминированного вирусами ПГ охлажденного и замороженного мяса домашней птицы, поскольку ВПГ могут сохраняться в течение многих лет при температуре ниже -70°C.

В этих условиях шанс обретения ВПГ способности передаваться от человека к человеку значительно повышается - для его реализации достаточно, если кто-либо из людей или других животных заболеет человеческим гриппом и ПГ одновременно. При этом резко повышается вероятность реассортации и формирования нового субтипа ВПГ, обладающего способностью передаваться от человека к человеку респираторным путем.

До сих пор нет доказательств, что это уже произошло, поскольку во всех известных случаях болезни инфицирование происходило только при прямом контакте с курами, т.е. пока болели ПГ в "чистом" виде, и пока ВПГ не обладают способностью распространяться в популяции людей столь же быстро, как человеческий грипп. Если появится штамм с потенциалом передаваться респираторным путем от человека к человеку, то это уже будет не ПГ, а, по существу, одна из разновидностей человеческого гриппа.

Поскольку пути передачи возбудителя не могут считаться окончательно расшифрованными, средства специфической профилактики инфекции пока отсутствуют, а должный уровень обеспеченности широких слоев населения мира эф-

фективными средствами лечения ПГ едва ли достижим в обозримом будущем, возникшая ситуация с распространением ПГ остается практически неконтролируемой.

В такой ситуации распространение инфекции будет очень трудно остановить, и она с легкостью сможет вызвать тяжелую пандемию среди людей. Поэтому эксперты полагают, что крупные эпидемические вспышки ПГ до сих пор не возникли только потому, что еще не сформировался штамм ВПГ, способный передаваться респираторным путем.

Вероятность развития глобальной эпидемии ПГ повышается и в силу ряда других обстоятельств, не имеющих прямой связи с особенностями инфекции, кроме ее способности распространяться респираторным путем (в случае, если возбудитель все же обретет ее).

Таковыми являются: высокая плотность населения планеты, по крайней мере, урбанического, интенсивность международных социально-экономических связей между странами Азии и, прежде всего, Европы - густонаселенного континента, который, по мнению ученых, является наиболее уязвимым для ПГ; по-прежнему остающиеся глобальными проблемами человечества бедность, голод, дефицит пресных источников воды и др. Кроме того, весьма существенным в данном контексте является отсутствие какой-либо иммунной к ПГ прослойки населения - поскольку штамм H5N1 в человеческой популяции ранее не циркулировал, понятно, что восприимчивость к вирусу H5N1 будет всемирной.

Изложенное с достаточной убедительностью демонстрирует, что возникновение пандемии ПГ среди людей хотя и не является неизбежным, но весьма вероятно. Поэтому в ее ожидании ВОЗ, CDC и национальные службы здравоохранения и ветеринарии в целом ряде стран мира осуществляют обширные программы мониторинга всех случаев заболевания гриппом, в том числе птичьим, по всему миру, включая появление потенциально пандемических штаммов вируса гриппа у животных.

Вместе с тем, специалисты полагают, что, если даже будут использованы все имеющиеся сегодня у человечества потенциальные возможности и средства для предотвращения "перерастания" эпидемий в трансконтинентальную пандемию, шансы на развитие событий по неблагоприятному сценарию все же существуют, и вопросы о том, удастся ли предотвратить новую пандемию, вызванную ВПГ, или в достаточной степени снизить ее последствия, пока остаются без ответа.

Необходимо особо подчеркнуть, что, если пандемия ПГ все же разразится, то в современных условиях, согласно прогнозам авторитетных экспертов, она будет иметь значительно больше

шансов на быстрое распространение, нежели, например, даже 50 лет назад.

Во-первых, в настоящее время значительная часть населения в той или иной степени иммунокомпрометирована - только число официально зарегистрированных ВИЧ-инфицированных лиц уже достигает 50 млн. Очевидно, что лица с иммунодефицитами окажутся наименее защищенными от ПГ.

Во-вторых, учитывая, что от "испанки" больше всего пострадали жители крупных густонаселенных городов, число которых в то время исчислялось единицами, наличие сегодня на планете около 30 мегаполисов, каждый из которых населяют 10 и более миллионов человек, создает условия для массового распространения инфекции.

Во-третьих, если в период "испанки" эпидемия распространялась со скоростью поезда или парохода, то сейчас за счет трансокеанских авиаполетов она обретает возможность распространиться по всей планете в считанные дни.

Остается важнейший вопрос - что сегодня человечество может реально противопоставить грядущей угрозе?

Прежде всего, успех в борьбе с ПГ во многом зависит от того, как скоро будет развернуто промышленное производство вакцин, пригодных для иммунизации людей. Потенциальная эффективность иммунопрофилактики ПГ представляется высокой, однако, пока не доказанной. Кроме того, даже используя немалый опыт в производстве вакцины от гриппа, наладить ее изготовление в количествах, достаточных для иммунизации всего населения планеты, с учетом необходимости своевременного внесения изменений в состав вакцины (поскольку свойства циркулирующих ВПГ постоянно меняются), будет технологически непросто.

Даже если удастся вовремя зафиксировать появление первых случаев массового распространения ПГ среди людей, производство нескольких миллиардов доз вакцины потребует не менее 6 месяцев.

И, наконец, вакцинация в глобальных масштабах трудно осуществима из-за несвоевременности ее поступления и разной доступности для различных социальных слоев населения планеты.

В подобной ситуации основными средствами, пригодными для предупреждения дальнейшего распространения ПГ, по-прежнему остаются проведение карантинно-обсервационных и отмена массовых мероприятий, интенсификация текущей и заключительной дезинфекций и строгое соблюдение мер по обеспечению личной гигиены и применению неспецифических средств индивидуальной защиты.

Предполагается, что лечение ПГ у людей вполне осуществимо с помощью традиционных лекарственных препаратов. Однако, прогнозируемое уже сегодня преобладание тяжелых форм заболевания, по всей вероятности, потребует применения более эффективных, но пока менее доступных, препаратов на основе ингибиторов N и интерферонов. К сожалению, современные мощности мировой фармацевтической промышленности реально смогут обеспечить ими лишь небольшую часть населения планеты, сосредоточившуюся в основном в развитых странах Европы, в США и Канаде.

Таким образом, приняв во внимание изложенные выше факты и соображения, приходится признать, что имеющиеся сегодня средства борьбы с ПГ весьма скромны, а возможности предотвращения распространения инфекции, к сожалению, достаточно ограничены, что требует относиться к возможности возникновения глобальной эпидемии этого опасного заболевания в высшей мере серьезно.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Букринская А.Г., Федорова Ю.Б., Бебешко В.А., Кицак В.Я. Вирусы гриппа. М.: ЦОЛИУВ, 1985, 55 с.; 2. Каверин Н.В., Смирнов Ю.А., Межвидовая трансмиссия вирусов гриппа А и проблема пандемий. - *Вопр. вирусологии*, 2003, N.3, с.4-10; 3. Кадырова А.А., Мамедов М.К. Птичий грипп: от эпизоотий к эпидемиям. - *Биомедицина*, 2006, N.1, с.3-10; 4. Львов Д.К. Экологические аспекты птичьего гриппа и перспективы профилактики. - В кн.: *Мат-лы Юбил. конференции инст-та полиомиелита и вирусных энцефалитов*. М., 2005, с.56-61; 5. Мамедов М.К., Кадырова А.А. Птичий грипп: от экологии к профилактике. - *Экоэнергетика*, 2006, N.1, с.46-51; 6. Садыхова Ф.Э. Экология вирусов гриппа в Азербайджане. Автореф. докт. дисс. М., 1989; 7. Bright R., Ross T., Subbarao K. et al. Impact of glycosylation on the immunogenicity of a DNA-based influenza H5NA vaccine. - *Virology*, 2003, v.308, p.270-278; 8. Cauthen A., Swayne D., Schultz-Cherry S. et al. Continued Circulation in China of Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses Encoding the Hemagglutinin Gene Associated with the 1997 H5N1 Outbreak in Poultry and Humans. - *J. Virology*, 2000, v.74, p.6592-6599; 9. Claas E. Pandemic influenza is a zoonosis, as it requires introduction of avian-like gene segments in the human population. - *Veterinary Microbiology*, 2000, v.74, p.133-139; 10. Dybing J., Schultz-Cherry S., Swayne D. et al. Distinct Pathogenesis of Hong Kong-Origin H5N1 Viruses in Mice Compared to That of Other Highly Pathogenic H5 Avian Influenza Viruses. - *J. Virology*, 2000, v.74, p.1443-1450; 11. Gao P., Watanabe S., Ito T. et al. Biological Heterogeneity, Including Systemic Replication in Mice, of H5N1 Influenza A Virus Isolates from Humans in Hong Kong. - *J. Virology*, 1999, v.73, p.3184-3189; 12. Govorkova E., Leneva I., Goloubeva O. et al. Comparison of Efficacies of RWJ-270201, Zanamivir and Oseltamivir against H5N1, H9N2 and Other Avian Influenza Viruses. - *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2001, v.45, p. 2723-2732; 13. Hatta M., Kawaoka Y. The continued pandemic threat posed by avian influenza viruses in Hong Kong. - *Trends in Microbiology* 2002, v.10, p.340-345; 14. Hatta M., Gao P., Halfmann P., Kawaoka Y. Molecular Basis for High Virulence of Hong Kong H5N1 Influenza A Viruses. - *Science*, 2001, v.293, p.1840-1842; 15. Horimoto T., Kawaoka Y. Direct Reverse Transcriptase PCR to Determine Virulence Potential of Influenza A Viruses in Birds. - *J. Clin. Microbiology*, 1995, v.33, p.748-751; 16. Ito T., Goto H., Yamamoto E. et al. Generation of a highly pathogenic avian influenza A virus from an avirulent field isolate by passaging in chickens. - *J. Virology*, 2001, v.75, p.4439-4443; 17. Kennedy F., Shortridge G., Gao P. et al. Interspecies transmission of influenza viruses: H5N1 virus and a Hong Kong SAR perspective. - *Veterinary Microbiol.*, 2000, v.74, p.141-147; 18. Leneva I., Goloubeva O.,



Fenton R. et al. Efficacy of Zanamivir against Avian Influenza A Viruses That Possess Genes Encoding H5N1 Internal Proteins and Are Pathogenic in animals. - *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2001, v.45, p.1216-1224; 19. Smirnov Y., Gitelman A., Govorkova E. et al. Influenza H5 virus escape mutants: immune protection and antibody production in mice. - *Virus Research*, 2004, v.99, p.205-208; 20. Sockett P. Avian influenza. - *Can. Med. Assoc. J.*, 1998, v.158, p.369-373; 21. Spackman E., Senne D., Myers T. et al. Development of a Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for type A Influenza Virus and the Avian H5 and H7 Hemagglutinin Subtypes. - *J. Clin. Microbiology*, 2002, v.40, p.3256-3260; 22. Suarez D. Evolution of avian influenza viruses. - *Veterinary Microbiology*, 2000, v.74, p.15-27; 23. Suarez D., Schultz-Cherry S. Immunology of avian influenza virus. - *Developmental and Comparative Immunology*, 2000, v.24, p.269-283; 24. Tumpey T., Suarez D., Perkins L. et al. Characterization of a highly pathogenic H5N1 avian influenza A virus isolated from duck meat. - *J. Virology*, 2002, v.76, p.6344-6355; 25. Zhou N., Shortridge K., Claas E. et al. Rapid evolution of H5N1 influenza viruses in chickens in Hong Kong. - *J. Virology*, 1999, v.73, p.3366-334.

**SUMMARY**

**Avian influenza: from epidemics to pandemia**  
**M.Mamedov, A.Kadyrova**

*The problem article is devoted of avian influenza and summarizes data reflected present situation contains the most important information about this disease among birds, animals and humans. In the paper authors presented data concerning evolution of influenza viruses among birds and main causes of humans involving to epidemic process. Besides in the review main information about avian influenza pathogenesis and clinic manifestations, modern approaches to laboratory diagnosis, drug therapy and possible measure for prevention are presented.*

Поступила 07.04.2006

## Современные лабораторные маркеры переносимости беременности

**Ф. Р. Исрафилбейли**

Азербайджанский Государственный Институт Усовершенствования врачей им. А.Алиева, г. Баку

Переносимая беременность является проблемой, представляющей большой научный и практический интерес в акушерстве. Актуальность ее объясняется большим числом осложнений в родах, высокой перинатальной смертностью. Частота переносимости (ПБ) в среднем в популяции составляет 8-9,9% и не имеет тенденции к снижению (3,12). Неонатальная заболеваемость при ПБ достигает 29‰, а перинатальная смертность -19‰ (5,8), что в 6 раз выше, чем при доношенной беременности. По статистическим данным приблизительно 18% беременностей в Соединенных Штатах отмечается в 41 недели, 7% - 42 недель (13). Риск неблагоприятных перинатальных и материнских результатов растет с увеличением гестационного возраста (1, 9).

Существует ряд теорий возникновения ПБ. Авторы одних теорий исходят из особенностей индивидуального развития оплодотворенного яйца, наследственности или конституциональных факторов, другие за основу берут неврогенные и гормональные расстройства. Любая концепция имеет свои доказательства, но ни одна из них не дает исчерпывающего объяснения ПБ. Все трудности, прежде всего, связаны с изучением механизмов наступления своевременных

родов. Поскольку ПБ означает по существу несвоевременное или запоздалое возникновение родовой деятельности, поэтому предполагают, что патогенез перенашивания непосредственно связан с механизмом возникновения родов (8).

Перенашивание беременности - сложный биологический процесс, сопровождающийся целым рядом патологических изменений в организме беременной, что неблагоприятно отражается как на организме самой женщины, так и плода. Эта патология тесно связана с такими факторами, как продолжительность нормальной беременности, механизм начала родов, внутриутробное развитие плода и т.д. По данным ряда авторов, в асфиксии различной тяжести рождается от 8,2 до 18% детей (1, 16). Слабость родовой деятельности встречается в 16,4-22,4% случаев, а частота абдоминального родоразрешения достигает 12,5% (9,26). Выявлена прямая зависимость между сроком ПБ и частотой осложнений в родах (17).

Риск рождения мертвого ребенка увеличивается с увеличением срока беременности. Данные нескольких исследований в Великобритании показали, что число смертельных случаев на 1000 переносимых беременностей начинает увеличиваться после 40 недель, с оценками 0,86-

1.08/1,000 между 40 и 41 неделей, 1.2-1.27/1,000 между 41 и 42 неделями, 1.3-1.9/1,000 между 42 и 43 неделями, и 1.58-6.3/1,000 после 43 недель (16).

Научный подход к проблеме ПБ определился к 1902г., когда впервые Беллантайн, а затем Рунге в 1948г. описали признаки переносимости у новорожденного, и этот синдром получил название Беллантайна-Рунге (1, 8, 18).

Как известно, физиологическая беременность продолжается в среднем 280 дней (или 40 недель), если считать с первого дня последней менструации. За это время развивается зрелый плод, способный к внеутробной жизни. Беременность, которая продолжается на 10-15 дней дольше, то есть составляет более 290 дней, называют переношенной. При этом возможно как пролонгирование физиологической беременности, так и истинное перенашивание. В акушерской практике наибольшее значение имеет истинное перенашивание, частота которого, по данным одних авторов, составляет 10% (20), а по другим данным - 2-42% случаев (1). Такие широкие колебания объясняются отсутствием единого мнения о начале перенашивания и сложностью определения истинной продолжительности беременности.

Истинное перенашивание характеризуется рождением ребенка с выраженными изменениями в плаценте и признаками перенашивания: отсутствием первородной смазки, сухостью и сморщиванием кожи. В этом случае уменьшается также и количество околоплодных вод. При значительном перенашивании в водах появляется примесь мекония (первородного кала) и цвет их становится зеленоватым или сероватым. По различным статистическим данным, переношенными рождаются от 2% детей (1, 8, 22).

Важнейшими особенностями современной клинической медицины являются широкое использование высокоинформативных лабораторно-диагностических технологий и стремительное внедрение в практику здравоохранения новых лабораторных методов. Развитие неинвазивных методов диагностики является перспективным направлением медицины. Внедренные в клиническую практику в рациональных и обоснованных комбинациях, такие технологии значительно расширили, а в ряде случаев существенно изменили представления об этиологии и патогенезе многих патологических состояний. Более того, современная технологическая база предоставила врачу возможность оперативно вносить в лечебные схемы соответствующие редакции, что обеспечило более гибкий подход к разработке долгосрочных программ лечебных мероприятий (24).

Современная система доказательной медицины выдвигает для врача-клинициста несколько задач: постановка диагноза на основе полученных лабораторных или других диагностически

значимых методов (скрининг); контроль за лечением (мониторинг); определение степени резистентности к схеме лечения; контроль излеченности пациента и формирование прогноза. Эти задачи на всех этапах призваны решать современные наукоемкие технологии, к которым принадлежит арсенал методов иммунодиагностики.

Основными направлениями научных исследований на данном этапе являются исследования роли иммунных факторов и внутриутробного инфицирования в патологии гестационного процесса, аутоиммунных механизмов в нарушении репродуктивного процесса.

Среди многочисленных теорий, объясняющих феномен вынашивания генетически несовместимого плода в организме матери, в настоящее время реальное экспериментальное и клиническое подкрепление получили две: теория иммунотрофизма (27) и теория гестационной иммуносупрессии (11). Первая теория основывается на установленных фактах распознавания иммунной системой матери антигенов фетального происхождения и нестандартного последующего их реагирования, которое направлено не на отторжение и разрушение чужеродных клеток, а на стимуляцию их роста. Этот эффект достигается через блокирование цитостатических реакций лимфоцитов и макрофагов, а также секрецию активированными иммунокомпетентными клетками различных цитокинов и ростовых факторов, индуцирующих пролиферативные процессы в трофобласте. Теория гестационной иммуносупрессии опирается на 2 группы фактов: установление феномена снижения иммунологической реактивности матери во время беременности и обнаружение иммунодепрессивных свойств целого ряда продуктов фетоплацентарного комплекса (ФПК), синтез которых возрастает с развитием гестации, а концентрации изменяются в геометрической прогрессии (23).

Иммунологические взаимоотношения, устанавливающиеся между матерью и ребенком во время беременности, в силу того, что синцитиотрофобласт и базальная децидуальная оболочка находятся в непосредственном контакте, а также в силу того, что происходит постоянное поступление клеток плода в кровотоки матери, создают защиту плода и его образований от иммунных механизмов матери. Но при некоторых условиях иммунологические механизмы могут стать причиной тяжелых осложнений, приводящих к нарушениям развития или даже к смерти плода. Этот аспект патологии беременности пока остается предметом исследований, и в настоящее время трудно судить об истинном значении иммунных механизмов в патогенезе различных осложнений беременности.

Во время беременности в организме матери происходит значительная перестройка им-

мунной системы. Беременность ведет к элиминации фетореактивных клонов В- и Т-лимфоцитов (6, 7). Выявлено, что во второй половине гестации начинает осуществляться перенос иммуногуморальных факторов плоду, что позволяет обеспечить его защиту как в период внутриутробного развития, так и в первые месяцы после рождения (10). Столь существенные изменения в значительной мере обусловлены появлением у беременной плаценты. Синтезируемыми плацентой и плодом белки и гормоны, по мнению авторов, выполняют ведущую роль в адаптации материнского организма к беременности (7, 10, 11). Подавляющие эффекты сыворотки крови беременных свидетельствуют о том, что в ней присутствуют факторы, обладающие иммуносупрессивными свойствами (15). Многие из них также имеют плодное и плацентарное происхождение. Поэтому необходимо рассмотреть роль различных продуктов ФПК в развитии гестационных изменений в иммунной системе матери. Одним из таких продуктов является трофобластический 1-гликопротеин (ТБГ).

Трофобластический 1-гликопротеин - специфический белок беременности. Биологическая роль ТБГ и его функции при беременности до сих пор остаются малоизученными. Известно, что у человека ТБГ начинает продуцироваться на 3-4 день после оплодотворения яйцеклетки (2,21). ТБГ является специфическим маркером плодовой части плаценты и синтезируется клетками цито- и синцитиотрофобласта. Впервые ТБГ был обнаружен в сыворотке крови рожениц, затем выделен из экстрактов плаценты (21, 28). В крови матери ТБГ появляется на ранних сроках беременности, его концентрация постоянно увеличивается в течение гестационного процесса и достигает максимального уровня к 35-37 недели беременности. Затем содержание протеина постепенно снижается вплоть до периода родов (2). Плацентарная секреция ТБГ носит пульсирующий характер (2, 28). ТБГ присутствует не только в сыворотке крови. В достаточно больших количествах он определяется в амниотической жидкости (21). Клетки амниона и хориона способны самостоятельно синтезировать ТБГ, однако с различным протеиновым спектром (21). Кроме того, ТБГ может экспрессироваться вне зоны беременности у человека клетками кишечника (25), костного мозга и периферической крови (28).

Одна из возможных функций ТБГ - транспортная. С.К. Кривоносов и соавт. (4) изучая физико-химические свойства ТБГ, обнаружили его взаимодействие с циклопентанпергидрофенантроновыми производными (холестерин, тестостерон, прогестерон, эстрадиол, эстрон) и некоторыми их синтетическими аналогами (синестрол, диэтилстильбестрол). При этом было установлено, что наиболее высокой эффективностью характеризовалось взаимодействие ТБГ с эстроге-

нами. Какова биологическая роль установленного феномена, может ли ТБГ переносить эстрогены или нейтрализовать их связывание со специфическими рецепторами? Пока эти вопросы остаются без ответов.

На основании результатов экспериментальных исследований К.В. Шмагель и В.А Черешнев (11) сделали определенный вывод о значении ТБГ для развития беременности. Внутриматочное введение беременным мышам кроличьей моноспецифической антисыворотки к мышинному ТБГ приводило к 100% прерыванию беременности.

Несмотря на отсутствие понимания роли ТБГ в развитии беременности, определение концентрации протеина в материнской крови довольно широко используется в акушерской практике. При обследовании в 18 недель беременных женщин с высоким риском задержки развития плода было установлено, что если уровень ТБГ в крови был повышенным, то вероятность реализации патологического прогноза значительно уменьшалась (2, 28). По мнению К.В. Шмагель и В.А Черешнева (11), концентрация ТБГ в материнской крови отражает функциональное состояние плаценты, о чем свидетельствуют данные, полученные авторами при невынашивании беременности, - ТБГ стимулирует продукцию интерлейкина-10, что ведет к подавлению Th1 типа иммунного ответа. В последней трети беременности была также обнаружена обратная связь между содержанием ТБГ в материнской крови и долей CD4 ( $r=-0,565$ ,  $p<0,05$ ) (11). Установленная зависимость, по мнению авторов, может быть отражением одного из механизмов реализации иммунодепрессивных свойств плацентарного белка - снижение количества иммунокомпетентных клеток с хелперным фенотипом (11).

Согласно полученным результатам среди важных феноменов проявления адаптации иммунитета матери к беременности относят следующие (11): развитие иммуотрофических явлений на границе мать-плод, переключение иммунного ответа с Th1 типа на Th2; опустошение вилочковой железы, блокирование ранних этапов дифференцировки Т-лимфоцитов; ослабление с развитием беременности реакций клеточной цитотоксичности; снижение митоген-индуцированного пролиферативного ответа Т-лимфоцитов крови во второй половине беременности; блокирование ранних этапов В-лимфоцитов, нарушение миграции зрелых В-клеток из костного мозга на периферию; уменьшение относительной и абсолютной численности В-лимфоцитов во II триместре гестации; элиминация фетореактивных клонов В- и Т-лимфоцитов; постепенное повышение в течение беременности спонтанной пролиферативной активности лимфоцитов крови; уменьшение концентрации IgG в материнской крови во второй половине беременности; постепенное

увеличение в течение беременности общей численности лейкоцитов, преимущественно за счет возрастания количества нейтрофилов; повышение в процессе развития гестационного процесса поглотительной и бактерицидной активности нейтрофилов; постепенный рост цитолитического потенциала системы комплемента; увеличение концентрации высокомолекулярной функции IgG-содержащих ЦИК в I и III триместрах гестации при стабильно низком содержании (на уровне здоровых небеременных женщин) низкомолекулярной фракции, обладающей патогенными свойствами.

Эти факты показывают, что во время беременности параллельно реализуется несколько процессов: подавляются реакции клеточного иммунитета, стимулируются механизмы неспецифической резистентности, иммунная система матери реагирует на фетальные антигены, происходит перенос материнского IgG плоду.

При перенашивании изменения в плаценте не считают специфическими (8). Регрессивные изменения, которые рассматриваются как признаки "физиологического старения" плаценты, при перенашивании оказываются более распространенными и более резко выраженными (8). При перенашивании регистрируют также низкий уровень ЦИК в крови (19), низкий уровень гормонов, снижение экскреции окситоцина (8).

Полученные данные обнаружили сразу несколько общих закономерностей в проявлении влияния продуктов ФПК (альфа-фетопроtein, плацентарный лактоген, ТБГ и неконъюгированный эстриол) на иммунную систему материнского организма. Первое, наиболее слабое действие они оказывали в I триместре беременности, когда их содержание в кровотоке относительно невысоко. Второе, в различные периоды гестационного процесса различные продукты ФПК могут вызывать неравноценные по силе эффекты, что не имеет прямой связи с их концентрацией в крови. Третье, общая направленность действия фетоплацентарных субстанций на иммунитет может меняться в разные периоды гестации (11). По данным К.В. Шмагель и В.А. Черешнева (11), ТБГ демонстрировал во все периоды беременности только угнетающее влияние. Четвертое, предварительная (до извлечения клеток из организма) трансформация лимфоцитов под влиянием продуктов ФПК вносит значительно более существенный вклад в адаптацию иммунной системы к беременности, чем непосредственное воздействие белков/гормонов на периферические иммунокомпетентные клетки при инкубации их в культуральной среде. Предполагают, что глубокие преформирующие изменения лимфоцитов при беременности определяются главным образом сдвигами в процессах их дифференцировки. По-видимому, влияние на незрелые имму-

нокомпетентные клетки является основой стабильности гестационной иммуносупрессии (7, 10).

Изучив роль ТБГ в регуляции иммунной системы матери при беременности, К.В. Шмагель и В.А. Черешнев (11) охарактеризовали ее следующим образом. Протеин оказывает высоко достоверное, главным образом, пролифелирующее влияние на функцию Т-лимфоцитов беременных женщин. В материнском организме ТБГ выступает преимущественно в роли ингибитора индуцированных пролиферативных процессов, что особенно ярко проявляется в I и II триместрах беременности (максимальное влияние во II триместре). В то же время белок усиливает митоген-независимую митотическую активность лимфоцитов, что реализуется во II и III триместрах гестации. Однако данный эффект прекращается после достижения концентрации ТБГ в материнской крови, соответствующей среднему физиологическому значению для 40 нед. гестации. Действие протеина на спонтанную пролиферацию лимфоцитов максимально выражено в III триместре беременности. Влияние ТБГ на функцию лимфоцитов имеет нелинейную волнообразную зависимость (14).

Большая часть исследователей, занимающихся проблемами гестационной иммуносупрессии, связывала ее проявление с непосредственным влиянием сывороточных факторов на реализацию эффекторных функций лимфоцитов беременных женщин (14, 15). Признано, что сыворотка крови действительно играет существенную роль в контроле иммунологических реакций. Однако, на основе многофакторного анализа удалось установить, что демонстрируемые в культуре клеток сывороточные феномены имеют второстепенное значение в адаптации иммунной матери к беременности (11). Их влияние носит временный "настроичный" характер. Поступающие в материнский кровоток продукты ФПК способны вызывать также продолжительные устойчивые изменения в лимфоцитах. Именно такая трансформация в иммунокомпетентных клетках является, на взгляд авторов, основой их толерантности к полуаллогенному плоду (11). Наиболее существенные сдвиги, по-видимому, происходят на ранних этапах дифференцировки лимфоцитов, что было продемонстрировано в экспериментах на животных (15).

Таким образом, продукты ФПК могут воздействовать на параметры иммунитета матери на трех уровнях: I - основной: долговременное трансформирующее воздействие абсолютной концентрации, опосредованное через ранние этапы дифференцировки лимфоцитов; II - второстепенный: непосредственное кратковременное влияние абсолютной концентрации на функции периферических лимфоидных клеток; III - имеющий характер "тонкой настройки": модулирующие эффекты варьирования белка/гормона относительно уровня гестационной нормы, изме-

няющие содержание в лимфоцитах цАМФ или экспрессию их поверхностных рецепторов.

Исследование корреляционных взаимоотношений между содержанием продуктов ФПК и численностью клеток с фенотипами CD3, CD4, CD8 в крови беременных привело к обнаружению в III триместре прямой зависимости между концентрацией альфа-фетопротеина и относительным количеством CD3 ( $r=0,537$ ,  $p<0,03$ ) (15). Каким образом и на каком уровне альфа-фетопротеин может участвовать в регуляции численности CD3+лимфоцитов, остается неизвестным.

Один из феноменов, проявляющихся во время беременности - снижение относительной и абсолютной численности В-лимфоцитов крови в средней трети гестации (11). ТБГ в небольших дозах может снижать относительную численность лимфоцитов. Таким образом, гестационная иммуносупрессия является временным динамичным состоянием иммунитета, который находится под контролем продуктов ФПК, и направлена на ослабление реакции отторжения генетически чужеродного плода.

На фоне развития гестационной иммуносупрессии поддержание системы противoinфекционной защиты женщины происходит за счет параллельного усиления механизмов неспецифической резистентности в организме, в первую очередь, нейтрофильного фагоцитоза. Принципиально важно, что оба процесса - подавление иммунитета и стимуляция фагоцитоза - управляются одними и теми же продуктами ФПК. Ведущая роль здесь принадлежит ТБГ, стимулирующему фагоцитоз.

Таким образом, переносимую беременность правильнее рассматривать как патологическое явление, обусловленное определенными причинами, зависящими от состояния организма как матери, так и плода. Многие женщины не видят проблемы в том, что их ребенок может появиться на свет на неделю-другую позже предполагаемого срока. Переносимая беременность обычно вызывает у будущих мам меньше опасений и тревог, чем недоношенная. Однако она тоже может стать источником серьезных неприятностей для мамы и малыша. Перенашивание беременности представляет высокий риск осложненного течения родов для матери и плода, при ней в родах больше осложнений у матери и плода, чем при своевременных родах. Это определяет актуальность настоящей проблемы в современном акушерстве.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Акушерство - Под ред. Г.М. Савельевой. М.: Медицина, 2000, с.320-327; 2. Александров Л.С., Размахина Н.И., Побединский Н.М., Платонова Т.К. Содержание трофобластического бета-гликопротеина в сыворотке крови при нормальной беременности и нефропатии. - Акушерство и гинекология, 1999, N.2, с.47-48; 3. Дуда В.И., Дуда В.И., Дуда И.В. Патологическое акушерство. - Минск: Высшая школа, 2001, 502 с.; 4. Кривоносов С.К., Зорин Н.А., Ионова Н.К. Иммунохимическое изучение взаимодействия человеческого тро-

фобластического бета-гликопротеина со стероидными и половыми гормонами. - Онтогенез, 1991, т.22, N.3, с.300-303; 5. Мамедова Ф.Р. К вопросу диагностики переносимой беременности. - Автореф. дис...к.м.н., Баку, 1968; 6. Павлов О.В., Сельков С.А. Иммунология репродукции: старые догмы и представления. - Журн. акуш. и жен. болезней, 2004, т.53, N.1, с.89-97; 7. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунология беременности. - М.: АНО Издательство РАМН, 2003, 399 с.; 8. Чернуха Е.А. Перенашивание беременности. - М.: Медицина, 1982, 192 с.; 9. Чернуха Е.А. Родовой блок. - М.: Триада-Х, 2003, 709 с.; 10. Ширшев С.В. Механизмы иммунного контроля процессов репродукции. - Екатеринбург: УрО РАН, 1999, 381 с.; 11. Шмагель К.В., Черешнев В.А. Иммунитет беременной женщины. - М.: Медицинская книга, Новгород: НГМА, 2003, 226 с.; 12. Alexander J.M., McIntire D.D., Leveno K.J. Forty weeks and beyond: pregnancy outcomes by week of gestation. - Obstet Gynecol., 2000, v.96, N.2, p.291-294; 13. American College of Obstetricians and Gynecologists: ACOG practice patterns. Management of postterm pregnancy. Number 6, October 1997. - Int J Gynaecol Obstet, 1998, v.60, N.1, p.86-91; 14. Arck P., Dietl J., Clark D. From the decidual cell internet: trophoblast-recognizing T cells. - Biol. Reprod., 1999, v.60, N.2, p.227-233; 15. Barokonyi A., Polgar B., Szekeres-Bartho J. The role of gamma/delta T-cell receptor positive cells in pregnancy: part II. - Am. J. Reprod. Immunol., 1999, v.42, N.2, p.83-87; 16. Cotzias C.S., Paterson-Brown S., Fisk N.M. Prospective risk of unexplained stillbirth in single-tons pregnancies at term: population based analysis. - BMJ, 1999, v.319, p.287-288; 17. Hannah M.E., Hannah W.J., Hellmann J. et al. Induction of labor as compared with serial antenatal monitoring in post-term pregnancy. A randomized controlled trial. The Canadian multicenter Post-term Pregnancy Trial Group [published correction appears in N Engl J Med 1992;327:368] - N Engl J Med, 1992, v.326, p.1587-1592; 18. Hollis B. Prolonged pregnancy. - Curr Opin Obstet Gynecol., 2002, v.14, p.203-207; 19. Houston D. Diagnostic laboratory immunology. - Immunol. All. Clin. North Am. Philadelphia, W.B. Saunders, 1994. p.199-481; 20. Kahn B., Lumey L.H., Zybert P.A. et al. Prospective risk of fetal death in singleton, twin, and triplet gestations: implications for practice. - Obstet Gynecol., 2003, v.102, p.685-692; 21. Kelly A.J., Wathen N.C., Rice A. et al. Low levels of amniotic fluid pregnancy specific-beta-1 glycoprotein in Down's syndrome. - Early hum Rev, 1994, v.37, N.3, p.75-78; 22. Mahjoub S., Ben Hmid R., Dakhi R. et al. Prolonged pregnancy: apropos of series of 102 cases. - Tunis Med., 2000, v.78, N.2, p.125-131; 23. Mogren I., Stenlund H., Hogberg U. Recurrence of prolonged pregnancy. - Int J Epidemiol., 1999, v.28, p.253-257; 24. Rand L., Robinson J.N., Economy K.E., Norwitz E.R. Post-term induction of labor revisited. - Obstet Gynecol., 2000, v.96, (5 pt 1), p.779-783; 25. Shupert W.L., Choun W.Y. Pregnancy specific beta-1 glycoprotein in human intestine. - Mol. Cell Biochem., 1993, v.120, N.2, p.159-170; 26. Sue A., Quan A.K., Hannah M.E. et al. Effect of labor induction on rates of stillbirth and cesar-ean section in post-term pregnancies. - CMAJ, 1999, v.160, N.8, p.1145-1149; 27. Wegmann T.G. Placental immunotrophism maternal T-cells enhance placental growth and function. - Am. J. Reprod. Immunol., Microbiol., 1987, v.15, p.67-70; 28. Wu S.M., Bazar L.S., Cohn M.L. et al. Expression of pregnancy specific beta 1 glycoprotein genes in hematopoietic cell. - Mol. Cell Biochem., 1993, v.122, N.2, p.147-158.

## SUMMARY

### *The modern biochemical markers of postdates pregnancy* **F.R.Israfilbayli**

*We have analysed the current data regarding one of the important proteins of pregnancy-PSG. The biological role of PSG and its functions during pregnancy has not been yet properly studied. The author provided the data about the role of PSG in regulation of immune system of mother during pregnancy.*

*It is underlined that the postdates pregnancy is a pathological condition. The postdates pregnancy has a higher rate of complications in mother and baby to compare to term pregnancy.*

Поступила 28.04.2006

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

# Морфологические изменения в органах иммунной системы в постреанимационном периоде и в условиях интенсивной терапии

А. Б. Гасанов, Э. К. Агаев

Азербайджанский Медицинский Университет, г. Баку

Очень часто встречается вторичный иммунодефицит (ВИД), обусловленный различными механическими травмами, хирургической травмой, средствами и мероприятиями интенсивной терапии и реанимации и т.д. (6, 9). Неслучайно появилось понятие "травматическая болезнь", "хирургическая иммунология", "наркозная травма", "операционный стресс" и др. Иммунодепрессивное состояние (ИДС) в условиях интенсивной терапии и реанимации является предпосылкой тяжелого течения постреанимационного периода, развития резистентных к терапии гнойно-септических осложнений, рецидивирующих инфекционных и воспалительных, алергических и аутоиммунных отклонений, замедления процессов регенерации и заживления ран и т.д. (1, 4, 12).

Вместе с этим, изменения в органах иммунной системы (ИС) при травматической болезни изучены относительно мало. Имеются лишь отдельные работы, указывающие на отклонения разных иммунологических показателей, особенно на морфологические изменения в лимфоидных органах, характеризующих особенности ИС в условиях общего адаптационного синдрома после травмы различного происхождения, а также в постреанимационном периоде. В целом они характеризуются острой атрофией тимуса, лимфатических узлов и селезенки.

С другой стороны, на различных экспериментальных моделях у животных, а также у человека выявлены, как иммунодепрессивное действие стресса (1, 4, 6, 9, 12), так и иммуностимулирующий эффект (5), либо отсутствие каких-либо изменений исследованных иммунологических показателей (3, 7, 8). Таким образом, на сегодняшний день малочисленные и противоречивые данные не позволяют достаточно определенно представлять побочных влияний стрессов различного характера, в том числе, операционного, на состояние ИС.

Целью настоящего исследования явилось изучение гистоструктурных основ и выявление

особенностей морфологических изменений лимфоидных органов в постреанимационном периоде и при стрессовых воздействиях, с учетом дальнейшего проведения сравнительного исследования с группами больных с хронической наркоманией.

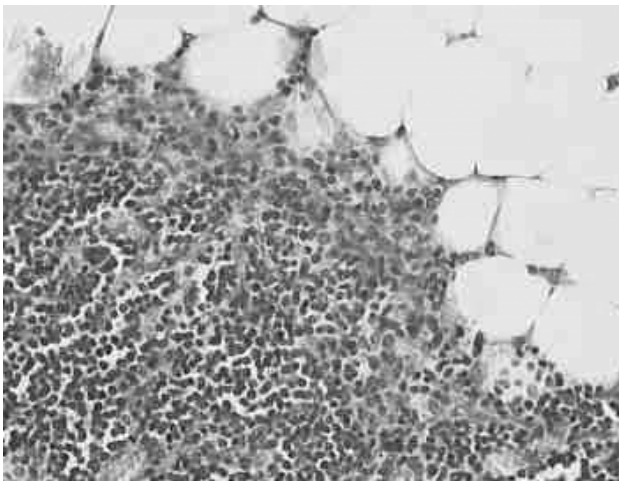
**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Проведены морфологические исследования 40 секционных наблюдений лиц, погибших в ближайшие часы после травмы (13 наблюдений), или в различные сроки после оперативного вмешательства до 1 месяца (27 наблюдений). Все эти люди мужского пола были в возрасте от 16 до 35 лет. 6 из исследованных больных по объективным аутопсийным и катанестическим данным в течение многих лет страдали хронической опиоидной наркоманией. Доказательством многократного внутривенного введения наркотических веществ на этих 6 трупах были множественные следы после инъекционных игл различной давности на коже сгибательной поверхности локтевых суставов. В 5 случаях при судебно-химическом исследовании в крови обнаружен также алкоголь (1,7-2,6%).

В качестве группы контроля использовался аутопсийный материал от 15 лиц мужского пола в возрасте от 16 до 35 лет, умерших в результате механической асфиксии (утопление в море или повешение).

Отбор и систематизация материала проводились на основе совместного с клиницистами изучения клинко-функциональных проявлений основного заболевания и его осложнений, особенностей терминального периода и характеристики структурно-функциональных изменений, выявленных при патологоанатомическом и судебно-медицинском исследовании сразу после наступления летального исхода.

Материал был получен из районных отделов объединения "СМЭ и ПА" МЗ Азербайджанской Республики (в основном из больницы скорой медицинской помощи им. М.Нагиева); также из различных патологоанатомических (в основном НИИ Скорой Помощи им. Н.В.Склифосовского) и танатологических отделений Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения г. Москвы.

Предметом исследования были лимфоидные органы - тимус, селезенка, лимфатические узлы



а)



б)

**Рис. 1. Лимфоидные органы при "травматической болезни". Окраска: гематоксилином и эозином. х 180.**  
**а - Тимус: острая инволюция паренхимы, коллапс коркового вещества.**  
**б - Селезенка: лимфоидный фолликул со светлым центром размножения. Опустошение Т-зоны.**

(парааортальные и брыжеечные), а также гипофизарно-надпочечниковое звено эндокринной регуляции.

Полученные на вскрытии образцы лимфоидных, а также других органов и тканей фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, заливали в парафин (и/или в целлоидин) и подвергали стандартной гистологической проводке. Гистологические срезы толщиной 4-10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону; выборочно ставили реакцию на гемосидерин по Перльсу. Проводили иммуноморфологическое исследование с использованием стандартных панелей моноклональных антител. Препараты изучали с помощью световых микроскопов "LEICA DMLB" и "PZO Warszawa", для исследования использовали компьютерный анализатор изображений, включающий микроскоп, видеокамеру, плату цифровой кодировки видеосигналов, компьютер. Вычисления данных количественного (морфометрического) исследования проводили на компьютере "Pentium" с использованием пакетов статистических программ SPSS и Microsoft Excell-97.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Непосредственной причиной смерти оперированных больных была либо острая сердечно-сосудистая недостаточность, обусловленная некоронарогенными некрозами миокарда, либо острая сосудистая недостаточность, связанная с тяжелыми нарушениями гемодинамики.

Макроскопически тимус был замещен жировой тканью. Селезенка имела плотноэластичную консистенцию, почти всегда была полнокровной, на разрезе имела темно-красный или вишневый цвет. Лимфатические узлы на разрезе отличались своим бледно-красным, а чаще всего - розовым цветом.

При микроскопическом исследовании у больных с травматической болезнью было обна-

ружено заметное отличие гистологической картины органов ИС от нормы, были найдены различного характера морфологические изменения в лимфоидных органах при исследовании разных аутопсийных материалов.

Морфологические изменения в тимусе в ближайшие часы после травмы складывались из "острой атрофии" - выраженного лимфоидного опустошения (делимфатизация). Наблюдалось сужение коркового вещества тимуса. Постстрессовая инволюция тимуса (рис. 1 а) вызвана усилением эмиграции лимфоцитов, их перераспределением в костный мозг и, в значительно меньшей степени, с клеточной деструкцией - апоптозом. В корковом веществе лимфоидные клетки без митотической активности, местами обнаруживаются макрофаги со светлой цитоплазмой. Вокруг этих макрофагов и эпителиального ретикулула отмечаются скопления лимфоцитов. Это приводило к формированию картины "звездного неба", что указывает на начало акцидентальной инволюции тимуса. Для мозгового вещества тимуса, было характерно увеличение числа телец Гассала.

В поздние декомпенсаторные стадии иммунодепрессии, особенно у больных с инфекционно-септическими осложнениями, прогрессирует акцидентальная инволюция тимуса с нарастающими атрофическими изменениями специфической паренхимы. Паренхиматозные структуры тимуса атрофировались в основном за счет угнетения процессов пролиферации и активации апоптоза лимфоцитов; делимфатизация и деплазматизация перисинусоидальных пространств. Эти изменения характеризовались полной утратой обычного строения долек и их дифференцировки на корковое и мозговое вещество. При из-

мерении площадей на гистологических срезах структур тимуса в стадии декомпенсации выявлены изменения в соотношении структурных компонентов органа, которые отличались степенью выраженности в различные сроки после стрессовых воздействий.

С помощью иммуноморфологического исследования с использованием стандартных панелей моноклональных антител у этих больных выявлена статистически достоверная тенденция к снижению концентрации Т-лимфоцитов, одновременное нарастание концентрации В-лимфоцитов в основном за пределами периваскулярных пространств.

При микроскопическом исследовании селезенки в начальные периоды травматической болезни у большинства раненных, подвергавшихся интенсивной терапии с использованием массивных инфузий коллоидных препаратов и гемотрансфузий, обнаруживались хорошо выраженные, большие лимфоидные фолликулы белой пульпы с многочисленными светлыми центрами размножения, строение которых отражало разные стадии их развития (рис. 1 б). Вместе с этим отмечались макрофаги с просветленной цитоплазмой, что придавало им вид "звездного неба", такого же, как в тимусе. В красной пульпе отмечались признаки пролиферации спленоцитов - макрофагов селезенки, что сопровождалось учащением митозов. А у больных с нагноительными процессами и другими инфекционными осложнениями обнаружено проникновение и диффузная инфильтрация нейтрофилов, с другими лимфо-лейкоцитарными элементами, в ткань тяжей красной пульпы.

При затяжном течении травматической болезни, сопровождавшейся развитием раневого истощения и/или инфекционных осложнений, атрофические изменения в селезенке постепенно становились более очевидными. Площадь лимфоидных фолликулов селезенки снизилась, образование светлых центров размножения практически прекращалось. Характерным проявлением атрофии белой пульпы служило также сужение маргинальной зоны. Однако явления бласттрансформации в лимфатических узелках не прекращались и нарастали при развитии инфекционных осложнений, что сопровождалось увеличением В-лимфоцитов. Вместе с картиной увядания центров размножения, это расценивалось как следствие формирующегося вторичного Т-клеточного иммунодефицита у раненных. Атрофические изменения белой пульпы становились выраженными только при наличии проявлений вторичного комбинированного Т- и В-клеточного иммунодефицита, что было особенно характерным для развития раневого истощения. Инволюция белой пульпы сопровождалась усилением склерозирования специфической па-

ренхимы, надвигавшимся со стороны красной пульпы. Нарастала лимфоидноклеточная и лейкоцитарная инфильтрация красной пульпы, усиливалась пролиферативная активность клеток красной пульпы и склерозирование ее.

При иммуноморфологическом исследовании у больных с затяжным течением травматической болезни в атрофирующихся лимфоидных фолликулах селезенки выявлено нарастание концентрации Т-супрессоров. Выявлено также относительное возрастание концентрации В-лимфоцитов, особенно в красной пульпе.

Динамика морфологических изменений селезенки, наблюдаемые в организме, перенесшем терминальное состояние, позволяет трактовать обнаруженные изменения как проявления развивающегося сперва вторичного Т-клеточного, а затем комбинированного Т- и В-клеточного иммунодефицита.

В лимфатических узлах в ранние сроки постоперационного периода обнаружено увеличение удельного объема фолликулов специфической паренхимы, активация их центров размножения. В некоторых случаях в лимфоидных фолликулах были найдены скопления лимфоцитов вокруг больших макрофагов со светлой цитоплазмой, т.е. отмечена картина "звездного неба". Обнаружено микроциркуляторное расстройство в виде мелких очагов диapedезных кровоизлияний на фоне полнокровия.

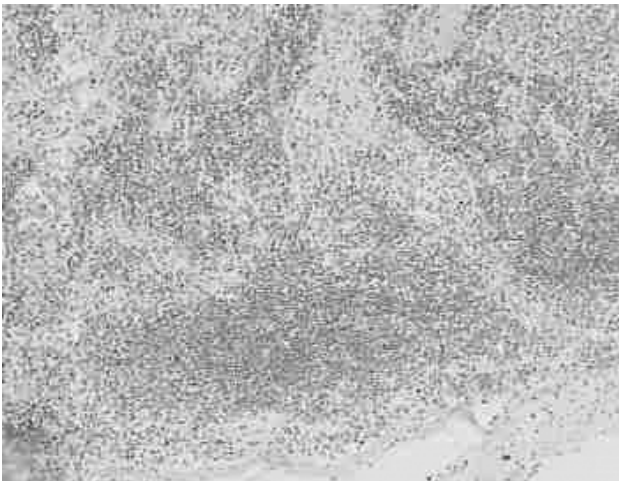
В поздние сроки травматической болезни, т.е. декомпенсаторной стадии проявления ВИД, в лимфатических узлах преобладал процесс разрежения лимфоидной ткани (рис. 2 а). Центры размножения находились в единичных лимфатических узлах и в фазе инволюции. Участились случаи с картинами "звездное небо" в оставшихся еще центрах размножения и паракортикальной зоне. Лимфоидные фолликулы постепенно заполнялись ретикулярными клетками. Лимфатические узлы постепенно утрачивали четкость границ. Все эти изменения сопровождались усилением явлений "гистиоцитоза" синусов и постепенным нарастанием склеротических изменений с атрофией лимфоидной ткани.

Иммуноморфологическое исследование лимфатических узлов больных травматической болезнью демонстрировало накопление в Т-зоне в основном Т-супрессоров (рис. 2 б).

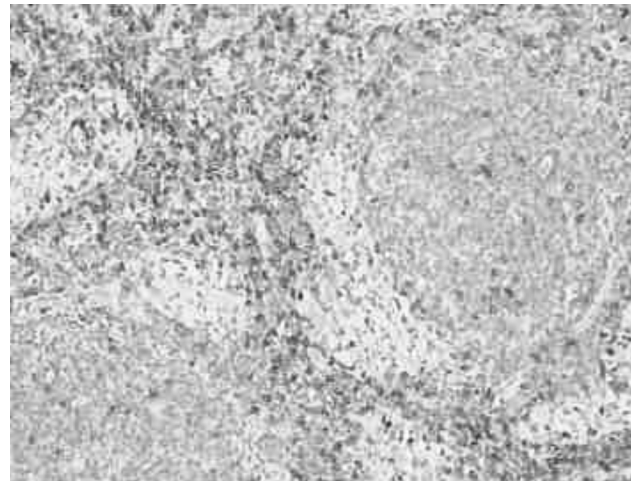
При затянувшемся течении травматической болезни нарастание атрофических и склеротических изменений найдены были в лимфоидных образованиях кишечника, в том числе и в пейеровых бляшках.

Выше представленные выраженные структурные изменения органов ИС, обнаруженные в организме, перенесшем терминальное состояние, свидетельствуют о развитии вторичной иммунной недостаточности, преимущественно Т-,





а)



б)

**Рис. 2. Лимфатический узел при "травматической болезни".  
а - опустошение Т- и В-зон, со склерозом. Окраска: гематоксилином и эозином. х 180.  
б - накопление Т-супрессоров в Т-зоне. Окраска с помощью моноклональных антител к CD8 антигену. х 300.**

а также комбинированного Т- и В-клеточных типов. Формирование преимущественно Т-клеточного иммунодефицита проявлялось прогрессирующим акцидентальным опустошением тимуса с делимфатизацией его коркового вещества и резким снижением корково-мозгового отношения, усилением бласттрансформации лимфоцитов в Т-зависимых зонах и плазматизацией периферических органов ИС. А формирование комбинированного Т- и В-клеточного иммунодефицита сопровождается выраженными атрофическими изменениями тимуса и явлениями его склероза, исчезновением светлых центров размножения и субатрофией лимфоидных фолликулов в периферических органах ИС.

Установлена определенная корреляция морфологических изменений не только со временем, прошедшим после травмы или оперативного вмешательства, но также с развитием у пострадавших инфекционных осложнений, которая не зависела от локализации травмы.

Проведенные исследования показали, что ИДС при травматической болезни наряду с морфологическими изменениями в органах ИС, обусловлено, в том числе, картиной гормональных отклонений и морфологическими изменениями в гипофизе и надпочечниках. Морфологические эндокринопатии в указанных железах в первые дни после травмы носят преимущественно гиперпластический и дистрофический характер, с острыми микроциркуляторными расстройствами, как реакции напряжения. В гипофизе обнаруживаются гиперплазия и гипертрофия базофилов; дисконфлексация клеток, как признак реакции мобилизации секреции; частичный кальци-

ноз коллоида. В надпочечниках в эти дни отмечалось увеличение толщины пучковой зоны коркового вещества, что проявляет, по-видимому, повышение секреции глюкокортикоидов; исчезновение зернистости в клетках мозгового вещества, с отеком и мелкими очагами кровоизлияния в нем. А к концу 1 месяца к этим патологиям в гипофиз-надпочечниковом звене присоединяются некротические, атрофические и склеротические изменения паренхимы и стромы желез, теперь уже как реакции истощения. Эти изменения более грубо выражены у лиц с хронической наркотической интоксикацией, а также особенно выражены были у больных с инфекционными осложнениями. В гипофизе отмечалась гиперплазия базофильных клеток, вакуолизация цитоплазмы базофилов и некроз клеток, умеренный склероз стромы, кальциноз коллоида. В надпочечниках наряду с дистрофическими и некротическими изменениями выражена была атрофия коры, исчезновение клеточных ячеек клубочковой зоны. В мозговом веществе надпочечников развивалась дегрануляция клеток.

Подобные изменения в гипофизе и надпочечниках, также как и в отношении восстановления иммунореактивности организма, требуют определения гормонального баланса и его коррекции у травмированных больных в постреанимационном периоде.

У 6 исследованных больных, страдавших одновременно хронической наркоманией, картина патогистологических изменений в органах ИС, также и эндокринных желез, состояла из более грубых хронических морфологических изменений, по сравнению с тем большинством, кто

не страдал этим недугом. У этих больных обнаруживались более глубокие изменения паренхимы органа, особенно атрофические и склеротические, которые имели тотальный характер. Помимо вышеуказанных, в тимусе хронических наркоманов выявлено жировое перерождение паренхимы, периваскулярный склероз сосудов.

ИДС, как одно из проявлений реанимационной патологии или "травматической болезни", развивается под влиянием разнообразных факторов экзогенного и эндогенного характера. Показано, что в механизмах развития посттравматического, в том числе, послеоперационного ВИД, участвуют продукты тканевого распада, эндотоксины, некоторые анестетики, применяемые при наркозе, различные лекарственные средства, массивное переливание крови и ее препаратов, средства реанимационной терапии, искусственное кровообращение, травма органов и тканей и т.д. (2).

ИДС, развивающееся в посттравматический период, сопровождается нарушениями в Т- и В-системах иммунитета и неспецифической защиты. Его особенностью является в основном экстренная мобилизация лимфоцитов, интенсификация процессов их миграции и перераспределение между различными органами ИС, кровью и другими тканями организма и, в значительной мере, с клеточным апоптозом - с разрушением лимфоцитов. В целом эти изменения характеризуются делимфатизацией лимфоидных органов. Однако, уменьшение массы лимфоидных органов при этом, по-видимому, также, как и при возрастной инволюции, не ведет к резкому снижению ее функциональных возможностей, не препятствуют развитию реактивной гиперплазии селезенки и региональных лимфатических узлов при возникновении инфекционных осложнений.

Стресс, вызываемый операцией, сопровождается увеличением количества пролиферативно активных В-лимфоцитов в периферической крови, в результате усиленного экспорта В-лимфоцитов в периферическую кровь для компенсации экстренно возникшей стрессорной иммуносупрессии. В организме возникает ситуация, при которой часть ИС находится в активированном состоянии, другие ее функции парадоксально угнетаются (10). В этой ситуации исход зависит от наличия компенсаторного потенциала организма. Динамика показателей иммунитета после травмы могут носить фазовый характер, сходный со стадиями общего адаптационного синдрома: ИДС прогрессирует после стадий угнетения и стимуляции, как истощение компенсаторных возможностей ИС и стадия декомпенсации. Снижение количества клеток Т-системы в постреанимационном периоде соответствует плохой компенсации со стороны организма, что

сопровождается медленным выздоровлением больных. Выраженное снижение и замедленное восстановление клеточного и гуморального иммунитета, т.е. декомпенсация ИС, является предпосылкой тяжелого течения постреанимационного периода, развития осложнений воспалительного характера, а также гнойно-септических осложнений. Давно уже доказанным считается регулирующее действие нейроэндокринной системы на пролиферацию, дифференцировку и активность иммунокомпетентных клеток. Метаболические процессы в иммунокомпетентных клетках находятся под контролем эндокринной и центральной нервной системы по типу обратной связи.

Таким образом, ИДС, развивающееся в постреанимационном периоде, это группа различных вариантов дисфункции ИС, которая выражается в угнетении, прежде всего, ее Т-клеточного, регуляторного звена (тимусзависимое ИДС), а также В-клеточного звена (гуморальное ИДС), фагоцитоза и неспецифических систем защиты, в сочетании с эндокринными нарушениями. ИДС при интенсивной терапии и реанимации следует рассматривать как комплексную проблему нарушения функций иммунной и нейроэндокринной систем.

Возрастание интереса к изменениям органов ИС при стрессе, наблюдаемое в настоящее время, не является случайным. Это связано с тем, что последствия перенесенных стрессов обусловлены не только силой, продолжительностью и природой стрессорного фактора, но и исходным функциональным состоянием ИС (2, 9, 11, 13). Различные предшествующие патологии, сопровождающиеся ослаблением ИС, сами приводят к существенным нарушениям иммунной реактивности и неспецифической реактивности организма. Они также могут предшествовать травме или осложнять течение травматической болезни, что однако, до сих пор остается вне поля зрения специальных исследований. Операционный стресс, развивающийся на фоне ИДС (например, при хронической наркомании), протекает еще тяжелее и нередко приводит к летальному исходу. В связи с этим операционный стресс, развивающийся на фоне патологии иммунитета у больных с хронической наркотической интоксикацией, представляет особый интерес.

Необходимо отметить, что тяжесть и глубина морфофункциональных изменений и клеточного состава органов ИС при операционном стрессе, также существенно зависит от индивидуальных особенностей устойчивости людей к стрессу (7), пола и возраста, срока воздействия стрессогенного фактора, уровня воздействующего фактора и способности адаптироваться к нему макроорганизма (9).

Данное обстоятельство свидетельствует о необходимости целенаправленной профилактики развития ИДС в постреанимационном периоде. Один из путей предупреждения послеоперационной заболеваемости в результате вторичного ИДС - совершенствование известных и разработка новых методов премедикации и послеоперационной анальгезии, методов и средств интенсивной терапии и реанимационных мероприятий, с учетом тяжести хирургической травмы, исходного состояния иммунной и эндокринной систем.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Волкова Л.В. Морфофункциональные изменения в тимусе и селезенке при стрессовых воздействиях. Автореф. дисс. докт. мед. наук. Кишинев, 1996, 40 с.; 2. Колобов С.В., Ярема И.В., Зайратьянц О.В. Основы регионарной иммунотерапии. - М., 2001, 182 с. 3. Новиков В.С., Смирнов В.С. Иммунофизиология экстремальных состояний. - М.: Наука, 1995, 172 с.; 4. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. - М., 2000, 184 с.; 5. Селье Г. Стресс без дистресса. - М.: Наука, 1984, 115 с.; 6. Смирнов В.С., Фрейдлин И.С. Иммунодефицитные состояния. - СПб., 2000, 557 с.; 7. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу. - М., 1998, 263 с.; 8. Царева С.В. Морфология лимфатических узлов при эмоциональном стрессе. - Автореф. дисс....канд. мед. наук, Москва, 1993, 25 с.; 9. Ягмуров О.Д. Функциональная морфология лимфоидных органов при вторичных иммунодефицитных состояниях. - Автореф. дисс....докт. мед. наук. СПб., 1997; 10. Faist E., Schinkel C., Zimmer S. Update on the mechanisms of immune suppression of injury and immune modulation. - World Journal of Surgery, 1996. v.20, N.4. p.454-459; 11. Taub D.D.,

Eisenstein T.K., Geller E.B. et al. Immunomodulatory activity of  $\alpha$ - and  $\kappa$ -selective opioid agonists. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1991, v.88, p.360-364; 12. Solomon G.F., Fiatarone M.A., Benton D. et al. Psychoimmunologic and endorphin function in the aged. - Am. N.Y. Acad. Sci., 1988, v.521, p.43-58; 13. Wiedermann C.J. Shared recognition molecules in the brain and lymphoid tissues: the polypeptide mediator network of psychoneuro-immunology. - Immunol. Letter, 1987, v.16, p.371-378.

**SUMMARY**

**Morphological changes in organs of immune system in postreanimation period in conditions of intensive therapy**

**A.Gasanov, E.Agayev**

*In the article the authors presented results of study dedicated to the problem of changes in organs of immune system in postreanimation period.*

*40 corps were morphologically investigated and results obtained demonstrated that in the time of terminal health conditions there was strong structural changes in organs of immune system. This changes expressed in T- and then B-cells immunodeficiency.*

*Immunodeficiency in time of intensive therapy and reanimation have to be considered as complex dysfunctions of immune and neuro-endocrine systems .*

Поступила 04.04..2006

**Влияние дефицитных вариантов альфа-1 антитрипсина на заболеваемость**

**М. З. Дадашов**

Институт Физики НАН Азербайджана, г. Баку

Альфа-1 антитрипсин (А1АТ) - один из основных ингибиторов сериновых протеаз - обладает широким спектром антипротеазной активности и обуславливает 90% антипротеазной активности сыворотки крови. Многочисленные исследования показали, что у больных с различными формами функциональных нарушений характерны высокие частоты мутантных вариантов А1АТ, продукты которых отличаются пониженной активностью (на 40-80% ниже нормы) (3, 11, 13). Особый интерес в этом отношении представляют

часто встречающиеся варианты S и Z, так как эти варианты ассоциируются с определенными заболеваниями легких и печени в раннем возрасте, чаще всего с летальным исходом (13). В меньшей степени низкая концентрация А1АТ ассоциируется с рядом других заболеваний: ревматоидным артритом, болезнью Вебера-Христиана, панкреатитом, псориазом, хроническом простатитом и др. (2, 3, 7, 8, 11, 15). Имеются также сообщения о причастности дефицита А1АТ к простудным заболеваниям в целом (9, 12). То

есть, А1АТ является маркером наследственной предрасположенности людей к различным формам патологии. Однако, несмотря на многочисленные исследования, данные о наличии ассоциаций различных аллелей А1АТ с различными заболеваниями противоречивы (7).

Целью настоящей работы явилось изучение связи между вариантами А1АТ с определенными заболеваниями.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** *Материалом для данного исследования являлась 219 образцов крови людей, полученных из различных клиник г.Баку. Были анализированы образцы сыворотки крови у лиц с неспецифическими заболеваниями легких (n=93), печени (n=60) и сердечно-сосудистой системы (n=66). В качестве контроля обследовали 100 образцов донорской крови.*

*Для фенотипирования вариантов А1АТ использовали методику ИЭФ в тонком слое ПААГ при рН 3,5-6,0 (10, 14).*

*Содержание А1АТ определяли спектрофотометрически по разнице расщепления низкомолекулярного субстрата - N-Бензоил-L-Аргинин этиловый эфир известным количеством трипсина и фермента, оставшегося после его взаимодействия с А1АТ сыворотки крови (1).*

*Результаты обработки общепринятыми статистическими методами.*

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.** В таблице № 1 и 2 представлены данные распределения фенотипов и определения концентрации А1АТ в изученных группах, соответственно. По количеству фенотипов группа больных почти не отличается от контроля. Концентрация ингибитора в первой группе больных с выраженным дефицитом А1АТ была  $0,90 \pm 0,07$  г/л, а с гетерозиготными вариантами  $1,70 \pm 0,03$  г/л. По данным большинства исследователей, у индивидуумов с А1АТ дефицитом, симптомы поражения респираторного тракта развиваются в возрасте 30-45 лет, в результате долголетнего, бесконтрольного воздействия эластазы на легочную ткань (7, 15). В нашем исследовании средний возраст в группе

больных с НЗЛ составил  $36,0 \pm 4,2$  года. Судя по табличным данным, при НЗЛ (хронический обструктивный бронхит - 44 чел., хронический бронхит - 15, хроническая пневмония - 17, бронхиальная астма - 15 и эмфизема легких - 2) характерно достоверное повышение частоты варианта Z как в гетеро-, так и в гомозиготном состоянии. Поэтому активность А1АТ в сыворотке крови не может подняться до нужного уровня. Кроме того, у этой группы больных частота M3 варианта была примерно 2,5 раза выше (18,3%), чем в контроле (7%). Это наводит на мысль о том, что в патогенезе заболеваний кроме А1АТ-дефицита играют роль и другие факторы, способствующие развитию патологии, по той причине, что при генотипе M2M3 концентрация ингибитора в сыворотке крови находится в пределах нормы. Продолжая обсуждение данного вопроса, логично будет предположить, что генетические механизмы организма обуславливают ослабление определенных защитных барьеров и это в свою очередь, повышает уязвимость организма к воздействиям разнообразных повреждающих агентов внешней среды.

По нашему мнению, в развитии патологии легких у лиц с недостаточностью А1АТ есть определенный вклад молекулярных вариантов структурных белков соединительной ткани - эластина и коллагена. Так как у аномальных молекул соединительной ткани, во внеклеточном матриксе наблюдается повышенная чувствительность к протеазам и действиям активных форм кислорода (4, 5).

Механизмы нарушения функции печени при А1АТ-генотипических аномалиях остаются малоизученными. В нашем исследовании концентрация А1АТ у больных с заболеваниями печени (хронический гепатит, желтуха и цирроз печени) была: при нормальных фенотипах -  $3,40 \pm 0,11$  г/л, при MZ -  $1,60 \pm 0,08$  г/л, MS -  $1,90 \pm 0,06$  г/л и ZZ -  $0,56$  г/л. Частота распределения вариантов бы-

**Таблица 1. Варианты альфа-1-антитрипсина у больных с различными диагнозами**

Обсл. Группы	N	Фенотипы А1АТ										χ <sup>2</sup>
		M1M1	M1M2	M1M3	M2M2	M2M3	MZ	MS	MR*	ZZ	SS	
I НЗЛ	93	48 (41,3) 51,6%	16 (21,9) 17,2%	6 (11,3) 6,5%	3 (2,9) 3,2%	11 (3,0) 11,8%	3 (4,7) 3,2%	1 (1,9) 1,1%	2 (1,3) 2,1%	2 (0,1) 2,1%	1 (0,0) 1,1%	24,60 p<0,05
II Печеночные заб.	60	30 (29,4) 50%	12 (12,6) 20%	4 (4,2) 6,6%	2 (1,4) 3,3%	2 (0,9) 3,3%	7 (7,7) 11,7%	1 (0,7) 1,6%	-	2 (0,5) 3,3%	-	1,79 p<0,05
III Сердечно-сосуд. Забол.	66	35 (34,9) 53,0%	15 (16,7) 22,7%	4 (4,4) 6,0%	3 (2,0) 4,5%	2 (1,1) 3,0%	4 (2,9) 6,0%	3 (2,2) 4,5%	-	-	-	2,15 p<0,05
IV Контроль	100	56%	25%	5%	4%	2%	2%	3%	1%	-	2%	1,08

Примечание: В первой строке каждого фенотипического класса приводятся наблюдаемые значения, во второй строке – ожидаемые абсолютные значения, рассчитанные в предположении выполнения закона Харди – Вайнберга, во третьем - наблюдаемые частоты в процентах. R\* - другие редкие фенотипы.

Таблица 2. Концентрация А1АТ у больных с различными диагнозами

Обсл. группы	N	Ф е н о т и п ы				Сред. конц.
		М М	М Z	М S	Z Z	
		Концентрация г/л, X ± σ				
I Неспец. забол. легких	93	2,80±0,07 87	1,60±0,02 3	1,80±0,03 4	0,90±0,07 2	2,71±0,23 t=±2,7 p<0,01
II Печеночные забол.	60	3,40±0,11 50	1,60±0,08 7	1,90±0,06 1	0,56±0,05 2	3,07±0,41 t=±2,4 p<0,02
III Серд.-сосуд. забол.	66	3,40±0,12 59	1,50±0,25 4	1,70±0,30 3	--	3,20±0,28 t=±0,48 p<0,01
IV Контроль	100	2,10±0,13 92	1,40±0,62 2	1,60±0,08 6	--	2,06±0,08

ли следующими: M1M1 - 50%, M1M2 - 20%, M2M2 - 3,3%, M2M3 - 3,3%, M1M3 - 6,6%, по дефицитным вариантам - 16,6%. Частота Z варианта была достоверно выше, чем в контроле. Частота нормального M3 варианта также была выше (0,0500) чем в контроле (0,0350). Однако, о роли M3 варианта в патогенезе печеночных заболеваний литературных данных не имеется, и необходимы дополнительные исследования. По результатам наших исследований, при патологиях печени MZ фенотип играет существенную роль. Это можно объяснить тем, что при наличии Z варианта поражения печени характеризуются некрозом отдельных гепатоцитов из-за нарушения секреции Z-белка (11, 17). Этот вариант обладает повышенной способностью к агрегации, также в плазме. В отличие от обычного варианта M, у которого 1,5% всех молекул находятся в агрегированной форме, при наличии Z варианта от 15 до 70% всего белка находятся в форме агрегатов. Опасность в том, что полимеризация идет спонтанно при 37°C (6, 11). Поэтому больным необходимо воздержаться от повышения температуры тела.

Клиническая картина больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями была следующей: гипертония, стенокардия, кардиосклероз и ишемическая болезнь сердца. Как видно из таблицы 2 у больных с MM фенотипами концентрация ингибитора было выше среднего уровня на 165%, а в гетерозиготных фенотипах уровень выше, но несущественно. В этой группе больных частота варианта MZ была три раза выше, чем в контроле. Это дает основание считать, что повышение А1АТ является адаптирующим показателем организма в ответ на активацию калликреин-кининовой системы, а дефицит А1АТ обуславливает нарушение в системе микроциркуляции (8). Другими словами, одним из факторов, осложняющих течение заболевания, являются варианты с низким уровнем А1АТ, в том смысле, что воспалительный процесс включает в себя активацию гу-

моральных и клеточных систем плазмы крови, в первую очередь, нейтрофилов и других фагоцитов (12). В литературе также высказывается мнение о том, что в условиях недостаточности А1АТ возникают и циркуляторные нарушения, обусловленные гиперпродукцией трипсиноподобных ферментов и кининов в крови, что осложняет течение сердечно-сосудистых заболеваний (13).

Таким образом, полученные результаты показывают достоверность увеличения частоты Z варианта у больных с HЗЛ, печеночными и сердечно-сосудистыми заболеваниями, а M3 варианта у больных с HЗЛ и заболеваниями печени. Эти результаты позволяют сделать вывод об ассоциации генотипа MZ с указанными заболеваниями, что подтверждается и литературными данными. Поэтому определение вариантов А1АТ имеет важное значения для установления причин изучения патогенеза болезней и для разработки методов патогенетической терапии наследственно-предрасположенных заболеваний (16). Это также необходимо на предприятиях с неблагоприятными условиями труда, с целью выявления лиц с повышенным риском развития патологий (11). При обнаружении дефицитного варианта А1АТ целесообразно исследовать родственников больных, особенно, если в семьях отмечены заболевания печени у детей и HЗЛ у взрослых молодого и среднего возраста.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Карягина И., Зарембский Р., Балябина М. Использование метода комплексного определения активности трипсиноподобных протеиназ α1-антитрипсина и α2-макроглобулина в гастроэнтерологической клинике. - Нейротоксикология и терология, 1990, т.12, N.1, с.10-13; 2. Пузырев В., Савюк В. Молекулярные основы и клинические аспекты недостаточности α1-антитрипсина. - Пульмонология, 2003, N.1, с.105-115; 3. Спицын В., Кухойзер В., Макаров С. и др. Русский генофонд. Частоты генетических маркеров. - Генетика, 2001, т.37, N.3, с.386-401; 4. Чекнев С. Активные метаболиты кислорода в обеспечении и контроле естественных цитотоксических реакций. - Вестник РАМН., 1999, N.2, с.10-15; 5. Cardoso W., Sekhon H., Hyde D. et al. Collagen and elastin in human pulmonary emphysema. - Am. Rev. Respir. Dis., 1993, v.147, p.975-981; 6. Dafforn T., Mahadeva R., Elliott P. et al. A kinetic mecha-

nism for the polymerization of  $\alpha_1$ -antitrypsin. - J. Biol. Chem., 1999, v.274, p.9548-9555; 7. Eden E., Mitchell D., Mehlman B. et al. Atopy, asthma, and emphysema in patients with severe alpha-1-antitrypsin deficiency. - Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1997, v.156, p.68-74; 8. Elzouki A.N., Ahlgren A., Lanne T. et al. Is there a relationship between abdominal aortic aneurysms and alpha-1-antitrypsin deficiency (PiZ). - Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg., 1999, v.17, p.149-154; 9. Gabay C., Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. - N. Engl. J. Med., 1999, v.340, p.448-454; 10. Hjalmarson K. Distribution of Alpha-1-antitrypsin phenotypes in Sweden. - Hum. Hered., 1988, v.38, N.1, 27-30; 11. Lomas D., Mahadeva R. alpha-1 Antitrypsin polymerization and the serpinopathies: pathobiology and prospects for therapy. - J. Clin. Invest., 2002, v.110, p.1585-1590; 12. Mehta J., Saldeen T. Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease. - J. Am. Coll. Cardiol., 1998, v.31, p.1217-1225; 13. Norman M.R., Mowat A.P., Hutchison D.S. Molecular basis, clinical consequences and diagnosis of alpha-1 antitrypsin deficiency. - Ann. Clin. Biochem., 1997, v.3, p.230-246; 14. Pascali V., Conte G. Improved classification of Alpha-1-antitrypsin in immobilized pH gradients containing sucrose. Electrophoresis, 1985, v.6, N.8, p.402-404. 15. Sandford A.J., Weir T.D., Pare P.D. Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. - Eur. Respir. J., 1997, v.10, p.1380-1391; 16. Silverman G., Bird P., Carrell R. et al. The serpins are an expanding superfamily of structurally similar but functionally diverse proteins. Evolution, mechanism of inhibition, novel functions, and a revised nomenclature. - J. Biol. Chem., 2001, v.276, p.33293-33296; 17. Teckman J., Perlmutter D. Conceptual advances in the pathogenesis and treatment of childhood metabolic liver disease. - Gastroenterology, 1995, v.108, p.1263-1279.

## SUMMARY

### ***Influence of deficient variants of alpha-1 antitrypsin on disease incidence*** **M. Dadashov**

*Alpha-1 antitrypsin (AIAT), one of the main serine protease inhibitors, has a wide spectrum of antiproteolytic activity.*

*In this work relationship between AIAT variants with the certain diseases has been studied. 219 samples of blood of patients with unspecific lung diseases (LUD), liver diseases and cardiovascular system diseases have been investigated.*

*The received results show a reliable increase in Z variant frequency in patients with LUD, hepatic and cardiovascular diseases. Increase in frequency of M3 variant in patients with LUD and liver diseases have also been observed. Therefore, determination of AIAT variants, is important for the establishing the causes of illnesses and for development the methods of disease pathogenetic therapies. This is also advisable at the enterprises with adverse working conditions for revealing of persons with the raised risk of pathologies.*

Поступила 07.04.2006

## Патогенез и лечение артериальной гипертонии у детей с гломерулонефритом

**Л. З. Ахмедова, Н. Н. Фейзуллаева**

Азербайджанский Государственный Институт Усовершенствования врачей им. А.Алиева, г. Баку

Артериальная гипертония (АГ) у детей чаще всего встречается при почечной патологии, в особенности при остром гломерулонефрите (ОГН) с нефритическим синдромом. Как известно, АГ почечного генеза протекает наиболее тяжело, иногда злокачественно (1, 6). Считают, с возрастом при ОГН гипертензия формируется у больных за счет гиперволемии большого круга кровообращения и увеличения сердечного выброса. Однако, гипертензия, как и некоторые признаки ОГН, может быть кратковременной, преходящей и даже однодневной, а выраженность этого синдрома имеет существенные различия. Длительное и стойкое повышение АГ является неблагоприятным признаком и приводит к раннему развитию осложнений в виде поражения сердца, мозга (3).

В настоящее время генез артериальной гипертонии рассматривается с позиции участия прессорных механизмов. Падение артериального давления (АД) в почечной артерии, в связи с ишемией почек при снижении пульсовой волны, приводит к недостаточному растяжению приводящей артериолы клубочка. Расположенный здесь юстагломерулярный комплекс - своеобразный волюморцепторный аппарат и очень тонко реагирует на изменение гемодинамики в почках, выделяя в кровь ренин. Ренин при взаимодействии с ангиотензиногеном образует неактивное вещество ангиотензин I, который под влиянием конвергирующих энзимов крови переходит в вазопрессорное вещество - ангиотензин II и его аналог - ангиотензин III, повышающие периферическое сопротивление сосудов. Кроме

того, под действием ангиотензина на кору надпочечников происходит выделение в кровь альдостерона, задерживающего в сосудах натрия и воду, что способствует повышению АД. Стойкая гипертензия способствует нефросклеротическим изменениям, что вторично приводит в действие ренопрессорные механизмы, тем самым, замыкается "порочный круг" гипертензии (2, 3).

В мозговом веществе почек выделены биологически активные кислые липиды - простагландины, обладающие депрессорной функцией. Простагландины обладают выраженным гипотензивным действием путем расширения просвета мелких артериол, вследствие чего происходит снижение диастолического давления. Взаимодействие прессорных и депрессорных веществ находится под влиянием калликреинкиновой системы, которая истощается при ОГН, что приводит к развитию гипертензионной реакции. В развитии гипертензионных реакций определенную роль играет увеличение внутриклеточного содержания натрия. Существует две точки зрения на роль натрия в развитии гипертензии. Одна из них связывается с появлением в крови при высоком уровне натрия и низкой активности ренина особого натрийуретического фактора, играющего причинную роль в повышении АД. Другая точка зрения заключается в том, что основную роль в патогенезе натрий зависимой гипертензии играет повышение активности симпатической нервной системы, обусловленной задержкой натрия в организме. Это связывают с наличием в центральной нервной системе особого чувствительного к натрию центра, определяющего повышение АД. В настоящее время известно большое количество вазоактивных веществ гипертензивного действия, постоянно или периодически циркулирующих в крови: нефротензин и тонин. Нефротензин обнаружен в почках человека и его связывают с почечной ишемией. Возможно, что именно этот фактор обуславливает развитие нефрогенной гипертензии. Тонин представлен во многих тканях; он осуществляет образование ангиотензина II. Предполагают, что тонин участвует в регуляции местных сократительных процессов, секреции антидиуретического гормона, катехоламинов, альдостерона. Выделение новых факторов еще более подчеркивает сложность системы биологических регуляторов сосудистого тонуса (4, 5).

Наш многолетний опыт работы по изучению различных аспектов острых гломерулонефритов с нефритическим синдромом у 1104 детей позволил обобщить клинический материал, который лег в основу настоящего исследования. Наличие АД было отмечено у 1020 (92,4%) больных.

На основании клинических исследований у нас сложилось четкое представление о роли АГ

в развитии гемодинамических нарушений и системного кровообращения: ухудшение течения заболевания почек при недостаточности кровообращения и их отрицательное влияние на органы кровообращения.

У 60 (5,9%) больных повышенное АД привело к отеку мозга и развитию почечной энцефалопатии. Эти состояния требовали проведения реанимационных мероприятий.

Длительное наблюдение за больными с хроническим гломерулонефритом (ХГН) позволили изучить прогностическое значение отдельных клинических особенностей этого заболевания и их роль в выборе оптимальных и профилактических мероприятий. Независимо от формы гломерулонефрита (ГН) прогностически неблагоприятным признаком считают артериальную гипертонию, особенно при ее раннем появлении, значительной выраженности и рефрактерности к терапии.

Роль АГ в прогрессировании патологии почек убедительно подтверждается в работах ряда авторов. Наиболее важными и не до конца изученными вопросами, касающимися нефропротективной терапии (не повреждающей почку) остаются следующие:

1) каков целевой уровень снижения АД у больных ГН с целью предупреждения развития хронической почечной недостаточности (ХПН);

2) имеет ли значение выбор антигипертензивного препарата с точки зрения эффективности нефропротекции?

Эти вопросы достаточно сложны, в особенности, первый из них, поскольку не так много исследователей ставили целью определить оптимальный уровень АД, препятствующий прогрессированию ХГН до стадии ХПН. Гораздо больше имеется данных об уровне АД, необходимом для предупреждения сердечно-сосудистой патологии. Аналогичный вопрос стоит и перед кардиологами, какой из гипотензивных препаратов дает наиболее выраженный кардиопротективный эффект, какой из них максимально снижает сердечно-сосудистую смертность.

В области нефрологии на данный момент вопрос выбора максимально эффективного препарата, способного затормозить прогрессирование патологического процесса в почках, практически однозначно решен в пользу ингибиторов ангиотензин превращающего фермента (ИАПФ). Оказалось, что ИАПФ, блокируя образование мощного вазоконстриктора - ангиотензина II, оказывают не только выраженное гипотензивное действие, но и специфическое защитное воздействие на почечную ткань, не зависящее от их влияния на АД. Установлено, что локально почечная концентрация ангиотензина II в тысячи раз превышает его содержание в плазме крови. Механизмы патогенного действия ангиотензина II обусловлены не только его вазокон-

стрикторным действием, но и пролиферативной, прооксидантной и протромбогенной активностью. Уникальные нефропротективные свойства ИАПФ позволяют использовать их у больных даже при нормальном АД.

В ряде случаев прогрессирование патологического процесса в почках продолжается достаточно быстрыми темпами, несмотря на длительное применение ИАПФ в терапевтических дозах. Важно всегда помнить, что нефропротективный эффект препаратов этой группы проявляется только при обязательном ограничении потребления соли с пищей. В противном случае, несмотря на применение препаратов в больших дозах, протеинурия будет нарастать, и у врача сложится ложное впечатление о неэффективности лечения.

Не всегда отсутствие эффекта от лечения этими препаратами можно объяснить нарушением солевого режима. Эффективность лечения может зависеть и от активности самого ИАПФ в крови.

Различная быстрота прогрессирования ГН с одинаковыми клиническими проявлениями, но различным течением позволяет считать стабильное повышение АД признаком значительного склероза почечной ткани, влияющим, однако, непосредственно на время возникновения ХПН. Хотя время развития гипертензии в значительной мере определялось активностью течения ГН, на быстроте прогрессирования болезни оно не отражалось.

В заключение следует подчеркнуть, что наиболее важным компонентом в лечении нефрологических больных является адекватный контроль АД. Целевой уровень АД, необходимый для предупреждения прогрессирования ГН, зависит от стадии почечной недостаточности и уровня протеинурии и не превышает 130/80-85 мм.рт.ст.

Для определения прогноза дальнейшего прогрессирования ГН и определения роли АД в этом процессе немаловажную роль играет исходная степень протеинурии. Эта величина также влияет и на эффективность гипотензивной терапии.

При лечении почечной гипертензии наиболее предпочтительно использовать гипотензивные препараты, которые: а) воздействуют на патогенетические механизмы развития АГ; б) не снижают кровоснабжение в почках и не угнетают почечные функции; в) способны корригировать внутриклубочковую гипертензию; г) не вызывают нарушений метаболизма и дают минимальные побочные эффекты. Для этих целей используют 5 классов гипотензивных лекарственных средств: 1) ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента; 2) антагонисты кальция; 3)  $\alpha$ -блокаторы; 4) диуретические средства; 5)  $\beta$ -блокаторы.

Из числа вышеприведенных 5 классов в неф-

рологии к препаратам выбора относят ИАПФ и антагонисты кальция. Они отвечают всем требованиям, предъявляемым для лечения почечной гипертензии и, что особенно важно, обладают одновременно нефропротективными свойствами. Фармакологические эффекты ИАПФ двояки. С одной стороны, он предотвращает переход ангиотензина I в ангиотензин II, являющийся одним из самых мощных вазоконстрикторов, и разрушает кинины - тканевые сосудорасширяющие гормоны. Соответственно, фармакологическое ингибирование этого фермента блокирует системный и органный синтез ангиотензина II и накапливает в циркуляции и тканях кинины. Клинически эти эффекты проявляются выраженным гипотензивным действием, в основе которого лежит снижение общего и локально почечного периферического сопротивления, и коррекцией внутриклубочковой гемодинамики. Влияние всех ИАПФ на почки практически одинаково. При исходно сохранной почечной функции и при длительном применении (месяцы, годы) ИАПФ увеличивают почечный кровоток, не изменяют, либо несколько снижают уровень креатинина крови, увеличивая скорость клубочковой фильтрации (4, 5).

По гипотензивной активности антагонисты кальция представляют собой группу высокоэффективных препаратов. Преимуществами их являются большая продолжительность действия, хорошая переносимость и тканевая специфичность.

Механизм гипотензивного действия антагонистов кальция связан с расширением артериол и снижением повышенного общего периферического сопротивления вследствие торможения входа ионов  $Ca^{2+}$  в клетку. Доказана также способность препаратов блокировать вазоконстрикторный эффект гормона эндотелия - эндотелина. Преимуществами перед другими гипотензивными средствами являются их выраженные антисклеротические и антиагрегационные свойства. Они увеличивают почечный кровоток и вызывают натрийурез. Всем антагонистам кальция свойственен нефропротективный эффект, который определяется уменьшением гипертрофии почек, угнетением метаболизма и пролиферации мезангия, и, следовательно, замедлением темпа прогрессирования ГН и развития ХПН. К ним относится нифедипин и верапамил, обеспечивающие непрерывное высвобождение в течение длительного времени и постоянную концентрацию препарата в крови, благодаря чему они лишены побочных реакций (тахикардия, аритмии, покраснение лица, гиперкатехоламинемия, которые являются неблагоприятными для функции сердца и почек), и могут быть рекомендованы для лечения почечной гипертензии.

Прием антагонистов Ca противопоказан при исходной гипотонии, синдроме слабости синусового узла, выраженной сердечной не-



достаточности.

β-блокаторы предназначены для лечения почечной гипертензии. Они не вызывают угнетения почечного кровоснабжения и снижения почечных функций. При длительном приеме их диурез и экскреция натрия сохраняются в пределах исходных величин. При лечении высокими дозами препаратов блокируется ренин-ангиотензиновая система. По длительности действия различают β-блокаторы короткого (пропранолол, окспренолол, метпролол), среднего (пиндолол) и длительного (атенолол, бетаксол, надолол) действия.

Наибольшее распространение из α-блокаторов получил празозин и доксазозин. Они увеличивают почечный кровоток, величину клубочковой фильтрации, обладают гиполипидемическими свойствами, мало влияют на электролитный метаболизм. Вышеперечисленные свойства делают целесообразным назначение препаратов при хронической почечной недостаточности.

В заключение следует подчеркнуть, что представленный спектр препаратов для лечения почечной гипертензии, применяющийся в виде монотерапии и в комбинации, обеспечивает строгий контроль АД, торможение развития ХПН и снижение риска гемодинамических нарушений.

Обсуждаются вопросы о темпе снижения АД, уровне, до которого следует снижать исходно повышенное АД. На основании большого клинического опыта и проведенных собственных наблюдений мы пришли к выводу, что:

- одномоментное максимальное снижение повышенного АД не должно превышать 25% от исходного уровня с тем, чтобы не нарушить функцию почек;

- у больных с патологией почек и синдромом АД гипотензивная терапия должна быть направлена в итоге на полную нормализацию АД, даже, нес-

мотря на временное снижение функции почек.

Данная тактика рассчитана на устранение системной АГ и, тем самым, внутригломерулярной гипертензии, как основных неиммунных факторов прогрессирования почечной недостаточности, и предполагает дальнейшее улучшение почечных функций (1, 6).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ахмедова Л.З., Фейзуллаева Н.Н. Состояние сердечно-сосудистой системы при гломерулонефрите у детей. - В кн.: Достижения медицинской науки и практического здравоохранения Азербайджана. Баку, 2001, т.1, с 141-145; 2. Игнатова М.С. Проблемы нефрологии детского возраста на рубеже столетий. - Российский вестник перинатологии и педиатрии. 1998, т.1, с.37-41; 3. Ренц Дун А., Андерсен Ш, Бреннер Б. Гемодинамические основы прогрессирования почечных болезней. - В кн.: Современная нефрология, Международный нефрологический семинар, М., 1998, т. II. с.162-172; 4. Рябов С.И. Нефрология. - С-Пб, 2000; 5. Шлопов В.Г. Болезни почек. 2003; 6. Fiqarov İ.N. Arterial hipertenziya və böyrəklərin fəaliyyəti. - Azərbaycan tıbbi elmi və praktik səhiyyənin müasir nailiyyətləri. Bakı, 2001, c.1, s.155-158.

#### SUMMARY

#### **Pathogenesis and treatment of arterial hypertension at children with glomerulonephritis** **L.Akhmedova, N.Feyzullayeva**

*In the article presented data about pathogenesis of hypotension syndrome at children with glomerulonephritis and its influence to the organs. Features of current hypotension syndrome and its influence on progressing of the given pathology, questions on rate of decrease of the level to which is necessary to reduce initially increased arterial pressure are considered. Medical tactics is recommended at children with arterial hypertension. The submitted preparations for treatment of kidneys hypertension as monotherapy and in a different combinations, provide the strict control of an arterial hypertension, braking of development of chronic kidney failure and decrease risk of cardiologic and vascular complications.*

Поступила 11.04.2006

## Гетеровир-ГА - новый иммунобиологический препарат для диагностики и количественной оценки вирусных антигенов

А. З. Абышев, Э. М. Агаев, А. А. Абдулла-заде

Санкт-Петербургский НИИ вакцин и сывороток, РФ  
Азербайджанский медицинский университет, г. Баку

**ВВЕДЕНИЕ.** При производстве противовирусных препаратов, в частности, противогриппозных вакцин, в ходе производственного цикла требуется проводить количественный анализ содержащегося в культуральной жидкости гемагглютина вируса гриппа на разных стадиях технологического цикла, что осуществляется в соответствии с "Методическими указаниями по проведению контроля противогриппозных препаратов", утвержденными еще в 1984 г., по методу одиночной реакции иммунодиффузии в агаровом геле. Метод обладает рядом существенных недостатков, а именно: низкими чувствительностью, объективностью и точностью, а также длительностью анализа, поэтому, по мере совершенствования технологического процесса, в связи с возрастающими требованиями к качеству продукции, возникает необходимость замены устаревших методов, и в т. ч. аналитических, более совершенными новыми методами.

К настоящему времени разработано и широко используется большое количество методов выявления вирусоспецифических агентов. Эти методы, преимущественно, основаны на введении в компоненты иммунного комплекса антиген-антитело различных меток, которые могут быть радиоактивными изотопами, ферментами или флуоресцирующими веществами. Получивший наибольшее распространение на первых этапах метод радиоиммунологического анализа (РИА) к настоящему времени уже практически полностью вытеснен методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) (4, 7) который, обладая преимуществами РИА (высокая чувствительность и специфичность), не имеет его недостатков - низкой стабильности и неудобств, создаваемых работой с радиоизотопами. Широко используемый в настоящее время метод ИФА также уже исчерпал свои возможности. К недостаткам ИФА можно отнести относительно длительное время для проведения анализа, низкую точность и воспроизводимость измерений, высокую цену некоторых ферментов и их низкую стабильность, а также возможность перекрестных реакций.

В последнее время предложен ряд новых аналитических методов, основанных на выявлении специфических вирусных нуклеиновых кислот. Так метод, основанный на ферментативной амплификации нуклеиновых кислот, позволяет снизить предел обнаружения вплоть до одной молекулы нуклеиновой кислоты (8). Однако, метод имеет серьезный недостаток - необходимость использования специфических праймеров, которые могут быть сконструированы методами генной инженерии, если известна последовательность нуклеотидов в выявляемой нуклеиновой кислоте. Другой современный аналитический метод, позволяющий обнаруживать вирусные антигены в пикограммовых количествах, основан на точечной гибридизации вирусных нуклеиновых кислот (9). Существенным недостатком этого метода является необходимость использования высокоочищенных препаратов комплементарных нуклеиновых кислот к радиоактивной метки, что снижает практическую ценность этого метода. Как ясно из вышеизложенного, перечисленные методы по ряду присущих им недостатков не могут быть использованы для анализа вирусных антигенов в производственных условиях. Наиболее удобным методом количественного определения гемагглютина (ГА) в производственных условиях является метод флуороиммунного анализа (ФИА), который широко используется в прикладной иммунохимии (6) и вирусологии. Для этого метода характерна высокая чувствительность, достигающая пикограммовых количеств вирусных агентов, хорошая специфичность и малая продолжительность анализа, а также объективность полученных результатов. Однако, ФИА также не лишен некоторых недостатков, заключающихся в применении труднодоступных или дефицитных флуоресцентных меток и приборов для регистрации флуоресценции, что, однако, не является серьезным препятствием для использования этого метода в производственных условиях.

Метод количественного ФИА ГА в вируссодержащих жидкостях, излагаемый в настоящей работе, разработан применительно к производ-

ственным условиям (5). Его главным отличительным моментом является использование в качестве флуоресцентной метки белка нового отечественного флуоресцентного реагента, селективно и ковалентно присоединяющегося к белку по сульфгидрильной группе и представляющего собой малеимидное производное 2Н-1-бензопиран-2-она (МИМК), синтезированного в НПК ХТЛП СПбНИИВС (3). Он не обладает собственной флуоресценцией, однако, интенсивная флуоресценция возникает у иммунного комплекса антитело-МИМК (Гетеровир-ГА) после их конъюгирования (1).

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.** Предлагаемый метод является вариантом твердофазного ФИА и основан на измерении флуоресценции иммунного комплекса, который включает в себя следующие основные стадии: адсорбцию антител на поверхности лунок полистиролового микропланшета, стадию специфического взаимодействия с участием меченого антитела, промежуточные стадии детекции флуоресценции и определения концентрации ГА по калибровочной кривой. В твердофазном ФИА детектируется фракция меченого соединения, связавшегося с иммуносорбентом, но для детекции вводится стадия десорбции меченого соединения с поверхности твердой фазы в объем. Это достигается за счет использования десорбирующего раствора.

**ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТА - ГЕТЕРОВИР-ГА.** Антитела получают из очищенных сывороток крови кроликов, иммунизированных ГА вируса гриппа, конъюгированным с синтетическим иммуномодулятором - иммунокором или его аналогами по схеме, разработанной нами ранее (1, 3).

Мечение антител (иммуноглобулинов класса G) против ГА вируса гриппа определенного штамма, с использованием меток МИМК или МИЭК (2) проводится по следующей схеме.

Раствор иммуноглобулинов известной концентрации в физиологическом растворе pH 7,2 - 7,4 нейтрализуют добавлением 15% объема 0,1 М карбонатно-бикарбонатного буфера pH 9,5 (Карбонатно-бикарбонатный 0,1 М буфер pH 9,5: растворяют 21,2 г  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  в 1 л дистиллированной воды - раствор А; растворяют 16,8 г  $\text{NaHCO}_3$  в 1 л дистиллированной воды - раствор В. Смешивают 13 мл раствора А и 37 мл раствора В и доводят дистиллированной водой до объема 100 мл). Затем белковый раствор в колбе объемом 50 мл помещают на магнитную мешалку и при постоянном легком перемешивании добавляют 1%-ный раствор МИМК в диметилформамиде в количестве, необходимом для получения концентрационного соотношения белок - метка равного 1:10. Реакцию проводят в течении 18 час. при 4°C. После этого меченый белок очи-

щают от избытка не связавшейся метки, органических растворителей, избытка солей, перемещенных и поврежденных белковых частиц с помощью колоночной гель-хроматографии на Sephadex G-25. Объем колонки 100 мл. Хроматографируемый раствор белка не должен превосходить по концентрации - 10 мг белка на 1 мл и по объему - 5 мл. Контроль за выходом фракции меченых антител осуществляют спектрофотометрически при длине волны 280 нм. Титр антител в РТГА после мечения не менее 1/128. Концентрацию очищенных меченых антител и молярное соотношение антитело - метка определяют спектрофотометрически при длинах волн поглощения белка и МИМК - на 280 и 330 нм, соответственно.

Зависимость интенсивности флуоресценции меченых антител от их концентрации определяют на спектрофлуориметре "Hitachi-MPF - 4А". Параметры измерений представлены ниже: длина волн возбуждения - 340 нм; длина волны эмиссии - 400 нм; ширина щели - 16 нм; чувствительность - 3 или 4.

Меченные антитела разливают в ампулы по 1 мл и лиофильно высушивают и хранят при температуре не выше 10°C. Срок годности препарата установлен по определению специфической активности в РТГА и его флуоресценции на протяжении 16-ти месяцев (табл. 1).

При необходимости содержимое ампулы растворяют в 1,0 мл дистиллированной воды и используют для иммунофлуоресцентного определения ГА в биологических средах. Меченные антитела, полученные по данной технологии, обладают активностью в РТГА с гомологичным вирусом не менее 1:64 и с гетерологичными вирусами не более 1:10, флуоресцируют в УФ-области спектра позволяют определять ГА до 10 нг/мл.

**МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ГА В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ.** Количественное определение ГА в вирусосодержащих жидкостях определяют с использованием твердофазного иммунофлуоресцентного метода на полистироловых планшетах. При этом установлено, что концентрация ГА в указанных жидкостях не должна превышать 100мкг/мл, что объясняется сорбционной емкостью лунки микропланшета, поэтому требуется предварительное определение концентрации белка по Лоури в исследуемых объектах и приготовление соответствующих разведений с помощью забуференного физиологического раствора.

Данный метод заключается в том, что на планшет сорбируют антитела против ГА вируса гриппа определенного штамма, затем их конъюгируют с любым вирусосодержащим гриппозным материалом, в котором нужно определить исследуемый антиген, а затем конъюгируют с меченым антителом против того же антигена т. е.

**Таблица 1. Определение срока годности меченных антител к ГА вируса гриппа**

Сероподтип	Время наблюдения, мес.	Специфический титр в РТГА	$\lambda$ возб., нм	$\lambda$ эмис., нм
	4	1:64	340	400
H3N2	8	- « -	- « -	- « -
	12	- « -	- « -	- « -
	16	- « -	- « -	- « -
HSwN1	4	1:64	340	400
	8	- « -	- « -	- « -
	12	- « -	- « -	- « -
	16	- « -	- « -	- « -

гетеровирусом-ГА. Метод осуществляется тремя этапами:

1) В лунки планшета разливают по 0,2 мл иммуноглобулинов в карбонатно-бикарбонатном буфере, с концентрацией белка 1 мг/мл. Планшет инкубируют 1 час при 37°C, затем 18 час при 4°C. После инкубации лунки промывают не менее двух раз забуференным физиологическим раствором. Свободные центры сорбции блокируют, добавляя в лунки по 0,2 мл 0,3%-ного раствора бычьего сывороточного альбумина (БСА) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 37°C. Затем каждую лунку промывают не менее 2-х раз забуференным физиологическим раствором.

2) В каждую лунку добавляют по 0,2 мл исследуемого вируссодержащего материала (вирусного концентрата, вакцины) и инкубируют 1 час при 37°C, после чего лунки промывают не менее 2-х раз забуференным физиологическим раствором.

3) В лунки добавляют по 0,2 мл раствора меченных антител в концентрации 100 мкг/мл и инкубируют 1 час при 37°C, затем лунки промывают не менее 4-х раз забуференным физиологическим раствором для удаления несвязавшихся меченных антител. После этого в каждую лунку добавляют по 0,2 мл десорбирующего раствора - 0,1 М раствора гидроксида натрия для десорбции иммунного комплекса антиген-антитело. После легкого встряхивания планшета раствор из лунки переносят в кювету для измерений и доводят объем до 3 мл карбонатно-бикарбонат-

ным буфером.

Интенсивность флуоресценции измеряют на спектрофлуориметре "Hitachi - MPF 4A" при чувствительности 3 или 4. Согласно полученным результатам определяют концентрацию ГА в исследуемых материалах.

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА. По измеренной интенсивности флуоресценции полученного раствора определяют количество ГА в образце.

Пример расчета. Экспериментально определено, что интенсивность флуоресценции образца на шкале чувствительности "3" прибора - 1 фл. = 16 (относ. ед.),  $I_g$  1 фл.=1,20, что соответствует  $I_g C=1,48$ , т.е. концентрация ГА составляет  $C=240$  мкг/мл.

Основные показатели метода:

1. Продолжительность эксперимента - рабочий день.

2. Производительность по определению концентрации ГА - 96 проб/день.

3. Минимально определяемая концентрация ГА в образце составляет менее 10 нг/мл.

Следует отметить, что настоящий иммунофлуоресцентный метод количественного определения гемагглютининов вируса гриппа по сравнению с существующим методом имеет высокую чувствительность определения (табл. 2), сокращает время анализа и повышает объективность полученных результатов, поэтому он прежде всего рекомендуется для контроля за количеством содержанием ГА в вируссодержащих препаратах в производственных условиях на

**Таблица 2. Параметры флуоресценции и пределы детекции конъюгатов иммуноглобулина (IgG) с некоторыми флуоресцентными реагентами**

Конъюгаты	Параметры флуоресценции, нм			$C_{мин}$	
	$\lambda_{ex}$	$\lambda_{em}$	$\Delta\lambda$	нМ	мкг/мл
Флуоресцеин - IgG	491	517	26,0	0,25	0,04
N-(3-пиренил)-малеимид - IgG	340	392	52,0	12,5	2,0
МИЭК - IgG	395	475	80,0	0,01	0,002
МИМК - IgG	340	400	60,0	0,06	0,01

Примечания: IgG - иммуноглобулин G, 1 нМ - 0,16 мкг/мл;  $C_{мин}$  - предел детекции;  $\Delta\lambda$  - сдвиг Стокса

предприятия по производству бактериальных препаратов медицинской промышленности России.

При этом следует отметить, что МИЭК обладает очень высокой собственной флуоресценцией, тогда как МИМК собственной флуоресценцией не обладает, однако, интенсивная флуоресценция возникает у иммунного комплекса антитело-МИМК после их конъюгирования. Результаты сравнительного изучения этих реагентов с известными аналогами представлены в таблице 2.

Разработанный нами метод также пригоден для диагностики не только вируса гриппа (с использованием препарата гетеровир-ГА), но и для других вирусных антигенов (например, гепатита В - с применением препарата гетеровир-НВs и др.), как самостоятельно, так и в сочетании с методом иммуноглобулина G, так как меченные антитела проявляют достаточно высокую специфичность в отношении к антигенам различных вирусов.

Таким образом, как видно из данных, представленных в настоящей работе, в итоге проведенных теоретических и прикладных исследований нами впервые разработан достаточно высокоэффективный меченый иммуноген - гетеровир-ГА (IgG-МИМК), необходимый для количественной оценки содержания ГА в биологических средах и объективной диагностики инфекций, вызванных различными штаммами вируса гриппа.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Абышев А.З., Агаев Э.М., Абдулла-заде А.А. Конъюгированные антигены на основе синтетических иммуномодуляторов. - В кн.: Материалы международной научно-практической конферен-

ции, посвященной 85-летию Санкт-Петербургской Государственной химико-фармацевтической академии. 2004, с.325-329; 2. Абышев А.З., Агаев Э.М., Абдулла-заде А.А. Синтез меченных антител к гемагглютинирующему вирусу гриппа. - В кн.: Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию Санкт-Петербургской Государственной химико-фармацевтической академии. 2004, с.209-213; 3. Абышев А.З., Венедиктова Н.А., Нежинская Г.И. и др. Сополлимер N - винилпирролидона и 7-(2-малеимидэтокси) - 2-Н-1-бензопиран-2-она в качестве иммуностимулятора. - Ав.с. №1702665 (1990); 4. Веселов С.Ю., Синяков Н.С., Харитоненков И.Г. и др. Разработка иммуноферментной тест-системы для количественной индикации гемагглютинирующего вируса гриппа в биологических образцах. - Вопросы вирусологии, 1985, N.6, с.672-679; 5. Крашенюк А.И., Филиппова М.Л., Абышева А.З. и др. Способ очистки вирусной суспензии от надмолекулярных образований. - Ав.с. №1632039 (1988); 6. Кубица Ю.Ф. Иммунофлуоресценция. - М.: Медицина, 1967, 255 с.; 7. Чард Т. Радиоиммунологические методы. - М.: Мир, 1981, 246 с.; 8. Carman W.T. Kidd A.A. An assessment of optimal conditions for amplification of HIV CINA using Thermus aquaticus polymerase. - J. of Viral Meth., 1989, v.23, p.277-290; 9. Norval M., Bingham R.W. Advances in the use of nucleic acid probes in diagnosis of viral diseases of man. - Arch. Virol., 1987, v.97, p.151-165.

**SUMMARY**

***Heterovir-HA - new immunobiological preparation for diagnostic and quantitative estimation of viral antigens***

***A.Abishev, E.Agayev, A.Abdulla-zadeh***

*In the presented article authors shows the results of experimental study on synthesis of new immunobiological preparation.*

*As a result of this theoretical and practical research was originated new immunobiological preparation (Heterovir-HA). This preparation is high efficacy marked immunogen for quantitative estimation of hemagglutinin in biological mediums and can be used for diagnostics of infections, caused by different types of influenza virus.*

Поступила 14.03.2006

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

### Обсемененность внутренних органов белых мышей при экспериментальных инфекциях, вызванных микроорганизмами, отличающимися по содержанию антиоксидантных ферментов

А. И. Гурбанов

Азербайджанский Медицинский Университет, г. Баку

Аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы обладают такими ферментами антиоксидантной защиты как, например, каталаза и супероксиддисмутаза (СОД). Эти ферменты защищают микроорганизмы от экзогенных и эндогенных окислительных стрессов, нейтрализуя свободные кислородные радикалы. В предыдущих исследованиях нами установлена роль этих ферментов в некоторых биологических свойствах микроорганизмов. В частности, установлено, что штаммы микроорганизмов, имеющих высокое содержание антиоксидантных ферментов (АОФ), обладают относительно высокой выживаемостью внутри макрофагов (2, 3). В настоящем исследовании мы изучили обсемененность внутренних органов животных при экспериментальных инфекциях, вызванных штаммами микроорганизмов, отличающихся по содержанию каталазы и СОД.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Были использованы точные культуры лабораторных штаммов *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans*, выращенных на соответствующих питательных средах. Клетки микроорганизмов дезинтегрировали на ультразвуковом дезинтеграторе, после чего спектрофотометрическим методом определяли внутриклеточные антиоксидантные ферменты. За единицу каталазы было принято количество фермента, которое разлагает 1 мкмоль  $H_2O_2$  в мин. (5), а за единицу СОД - количество фермента, ингибирующего восстановление нитросинего тетразолия на 50% в мин. (4).

В экспериментах было использовано 36 неинбредных мышей, весом 20-25 г, в возрасте 2-3 мес. Животных заражали внутрибрюшинным введением суспензии соответствующего микроорганизма, содержащей

$10^7$  микробных клеток в 1 мл физиологического раствора. Спустя 5 дней животных забивали путем декапитации под эфирным наркозом и вскрывали. Из стерильно взятых внутренних органов: печени, почек, селезенки и легких при помощи гомогенизатора готовили гомогенаты и количественно засеивали на соответствующие питательные среды. Посевы инкубировали в термостате при  $37^\circ C$  в течение 2-х суток. Выросшие колонии подсчитывали, определяли количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 г первичной ткани и выражали в натуральных логарифмах (ln).

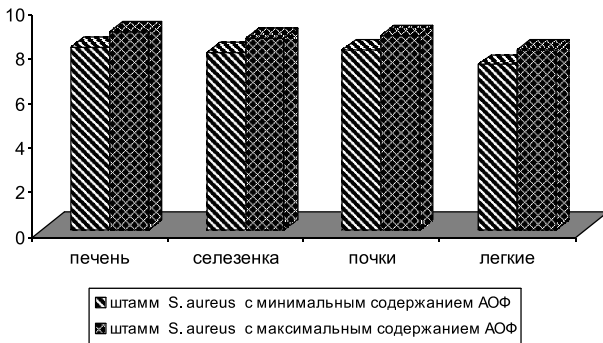
Статистическую обработку полученных результатов проводили по общепринятой методике с определением Р критерия Стьюдента (1).

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Исследованиями установлено, что штаммы естественных популяций микроорганизмов отличались по содержанию антиоксидантных ферментов: количество и каталазы, и СОД варьировало в широком диапазоне у разных штаммов каждого вида. Однако, для дальнейшего исследования нами были отобраны штаммы с максимальным и минимальным содержанием этих ферментов (Таблица).

При изучении количества КОЕ, выделенных из внутренних органов, наиболее высокая обсемененность выявлена в печени, а наиболее низ-

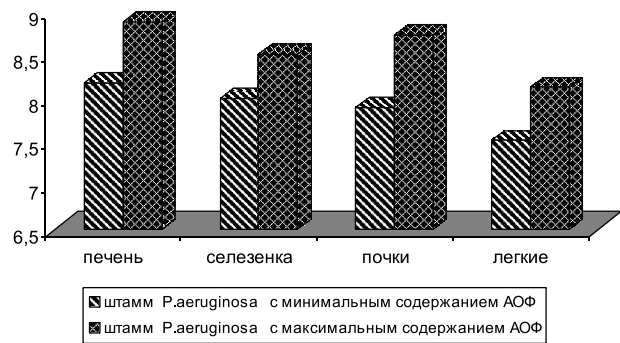
**Таблица. Штаммы микроорганизмов с максимальным и минимальным содержанием каталазы и супероксиддисмутазы.**

Штамм №	Содержание ферментов (ед/мг)	
	Каталаза	СОД
<i>S. aureus</i> 3 (мин.)	63,8	10,6
<i>S. aureus</i> 5 (макс.)	166,7	27,8
<i>P. aeruginosa</i> 9 (мин.)	67,3	9,6
<i>P. aeruginosa</i> 2 (макс.)	241,5	28,8
<i>C. albicans</i> 1 (мин.)	18,5	198,4
<i>C. albicans</i> 4 (макс.)	43,5	384,2



**Рис. 1. Обсемененность внутренних органов белых мышей, зараженных штаммами *S. aureus*, отличающимися по содержанию антиоксидантных ферментов (АОФ).**

По оси ординат - натуральный логарифм количества высевных КОЕ из 1 г ткани соответствующего органа.



**Рис. 2. Обсемененность внутренних органов белых мышей, зараженных штаммами *P. aeruginosa*, отличающимися по содержанию антиоксидантных ферментов (АОФ).**

По оси ординат - натуральный логарифм количества высевных КОЕ из 1 г ткани соответствующего органа.

кая - в легких зараженных животных. Количество микроорганизмов, отличающихся по содержанию антиоксидантных ферментов, во внутренних органах было разным.

Так, штаммы микроорганизмов с максимальным содержанием каталазы и СОД проявляли относительно высокую обсемененность во внутренних органах по сравнению со штаммами с минимальным содержанием этих ферментов.

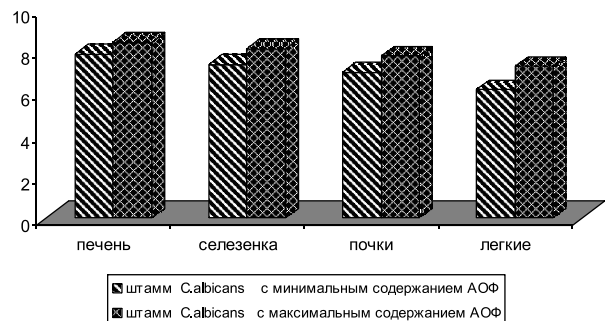
Натуральный логарифм количества высевных КОЕ штамма *S. aureus* с минимальным и максимальным количеством антиоксидантных ферментов (АОФ) в печени, селезенке, почках и легких были, соответственно:  $8,22 \pm 0,18$  и  $8,92 \pm 0,16$  ( $p < 0,05$ ),  $8,07 \pm 0,16$  и  $8,73 \pm 0,18$  ( $p < 0,05$ ),  $7,97 \pm 0,15$  и  $8,62 \pm 0,15$  ( $p < 0,05$ ),  $7,42 \pm 0,19$  и  $8,10 \pm 0,12$  ( $p < 0,05$ ) (рис. 1).

У животных, зараженных *P. aeruginosa*, натуральный логарифм количества высевных КОЕ штамма с минимальным и максимальным количеством антиоксидантных ферментов в печени, селезенке, почках и легких были, соответственно:  $8,18 \pm 0,14$  и  $8,88 \pm 0,11$  ( $p < 0,05$ ),  $8,00 \pm 0,14$  и  $8,60 \pm 0,18$  ( $p < 0,05$ ),  $7,90 \pm 0,20$  и  $8,51 \pm 0,11$  ( $p < 0,05$ ),  $7,52 \pm 0,19$  и  $8,13 \pm 0,13$  ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

Количество КОЕ во внутренних органах животных, зараженных *C. albicans*, также отличалось в зависимости от количества АОФ. Так, натуральный логарифм количества высевных КОЕ штамма *C. albicans* с минимальным и максимальным количеством антиоксидантных ферментов в печени, селезенке, почках и легких были соответственно:  $7,87 \pm 0,15$  и  $8,40 \pm 0,10$  ( $p < 0,05$ ),  $7,36 \pm 0,19$  и  $8,10 \pm 0,17$  ( $p < 0,05$ ),  $6,97 \pm 0,19$  и  $7,77 \pm 0,21$  ( $p < 0,05$ ),  $6,16 \pm 0,34$  и  $7,26 \pm 0,22$  ( $p < 0,05$ ) (рис. 3).

Таким образом, штаммы, обладающие максимальным количеством внутриклеточных антиок-

сидантных ферментов, вызывают относительно более высокую обсемененность внутренних органов при экспериментальных инфекциях по сравнению со штаммами, содержащими минимальное количество этих ферментов. Механизм данного явления можно объяснить антифагоцитарной активностью каталазы и СОД: защищая микробные клетки от действия кислородных радикалов внутри фагосом, эти ферменты способствуют более длительному выживанию микроорганизмов (2, 3). Персистенция микроорганизмов в организме ухудшает течение инфекционного процесса и тем самым обуславливает более высокое количественное содержание их во внутренних органах, следовательно антиоксидантные ферменты являются одним из факторов патогенности.



**Рис. 3. Обсемененность внутренних органов белых мышей, зараженных штаммами *C. albicans*, отличающимися по содержанию антиоксидантных ферментов (АОФ).**

По оси ординат - натуральный логарифм количества высевных КОЕ из 1 г ткани соответствующего органа.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Ашмарин И.П., Васильев Н.Н., Амбросов В.А. Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов. - Л., 1975, 76 с.; 2. Курбанов А.И. Внутриклеточные антиоксидантные ферменты *S.albicans* при фагоцитозе макрофагами. - Проблемы медицинской микологии, 2005, т.7, N.2, с.105-106; 3. Курбанов А.И., Караев З.О. Роль каталазы и супероксиддисмутазы микроорганизмов при их фагоцитозе макрофагальными клетками. - Биомедицина, 2005, N.3 с.44-45; 4. Чевари С., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. - Лаб. дело, 1985, N.11, с.678-681; 5. Catalase. Biochemical information. - Germany, 1975, v.2, p.45-47.

**SUMMARY*****The contamination of internal organs of mice at the experimental infections caused by microorganisms with different antioxidant enzymes*****A.Qurbanov**

*The antioxidant enzymes protect microorganisms from oxidative stresses, neutralizing free oxygen radicals. In the present research we have studied the contamination of animals, internal organs at the experimental infections caused by strains of Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa and Candida albicans, different to contents catalase and superoxide dismutase (SOD).*

*It is established, that strains, possessing by a maximum intracellular antioxidant enzymes, cause higher contamination internal organs at experimental infections in comparison with strains, containing a minimum quantity of these enzymes.*

Поступила 27.04.2006



# ИСТОРИЯ БИОМЕДИЦИНЫ

## К ДВАДЦАТИЛЕТИЮ СОЗДАНИЯ РЕКОМБИНАНТНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГЕПАТИТА В

### *Успехи, проблемы и перспективы иммунопрофилактики вирусного гепатита В*

В следующем году исполнится 60 лет с того момента, когда в научной литературе впервые появился термин "вирусный гепатит В" (ГВ), предложенный Ф.Мак-Кэлмумом для обозначения заболевания, ранее известного в научной литературе под названием "сывороточный гепатит".

Почти шестидесятилетнюю историю изучения этого заболевания и его возбудителя и поисков средств борьбы с ним можно условно разделить на три периода. На протяжении первого периода осуществлялся поиск возбудителя заболевания - вируса гепатита В (ВГВ), завершившийся открытием поверхностного антигена ВГВ - HBsAg (Б.Бламберг, 1963-1965 г.) и визуализацией частицы ВГВ (Д.Дейн и др., 1970 г.).

Второй период, начавшийся в 1970 г., был посвящен детальному изучению ВГВ и вызываемой им инфекции, а также поиску средств, пригодных для этиотропного лечения и профилактики ГВ.

Следует особо подчеркнуть, что именно на протяжении этого периода, благодаря широкому использованию методов лабораторной индикации ВГВ, было установлено, что инфекция, вызванная ВГВ, в действительности имеет несравненно более широкое распространение, нежели можно было предположить даже в начале 70-х гг. По мере накопления результатов сероэпидемиологических исследований становилось все очевиднее, что показатели заболеваемости острым и хроническим ГВ не отражают истинных и, как оказалось, глобальных масштабов распространения этой инфекции. Более того, выяснилось, что в некоторых регионах мира субклиническая инфекция, вызванная этим вирусом, выявляется у немалой части здорового населения.

Эти данные привели к формированию и упрочению мнения о том, что в борьбе с этой инфекции важнейшее место должна занять вакцинопрофилактика. При этом, уже в тот период бы-

ло достаточно ясно, что создание эффективной вакцины против ГВ может позволить не только снизить заболеваемость ГВ, но и, со временем, ограничить ее распространение в эндемичных регионах.

Надо признать, что интенсивные научные изыскания в области изучения возможностей вакцинопрофилактики ГВ оказались весьма продуктивными - уже в конце 70-х гг. XX в. были получены первые экспериментальные образцы инактивированных вакцин, а в самом начале 80-гг. - изготовлены промышленные партии вакцин, успешно прошедших испытание на волонтерах.

Продолжающийся в наши дни третий период ознаменовался началом производства вакцин против ГВ, сегодня обозначаемых как "вакцины 1-го поколения", а также интенсивным внедрением в процесс разработки вакцин генно-инженерных технологий, за счет чего 20 лет назад появилась рекомбинантная вакцина против ГВ - первая из ряда последующих поколений вакцин, применение которых и составило основу современной стратегии вакцинопрофилактики, благодаря которой инфекция, вызванная ВГВ, сегодня уже может считаться контролируемой.

Учитывая, что в результате рационального использования вакцин против ГВ к настоящему времени наметился перелом в борьбе с этой инфекцией в мире в целом, можно без преувеличения утверждать, что основой принципиального изменения эпидемиологической ситуации в отношении ГВ стала именно целенаправленно осуществляемая вакцинация.

Данный факт дал нам основание полагать, что появление первой рекомбинантной вакцины против ГВ явилось той вехой в борьбе с ГВ, которая предопределила многие успехи, достигнутые за минувшие годы современной профилактической медициной. Приняв во внимание то, что это событие произошло ровно двадцать лет назад, мы решили посвятить ему этот небольшой очерк.

В первую очередь, отдавая должное исторической истине, отметим, что важнейшей предпосылкой к созданию вакцины против ГВ стали тщательно выполненные эпидемиологические наблюдения Сола Кругмана, начатые еще 50 лет назад в школе Уиллоубрук для умственно отсталых детей в Нью-Йорке, в которой на протяжении более 12 лет имели место неоднократные вспышки вирусного гепатита, как с коротким, так и с длинным инкубационными периодами. На основе анализа повторных случаев заболеваний Кругман разработал концепцию вакцинации против ГВ, показал возможность пассивной иммунизации детей и уже в 1971 г. получил первый экспериментальный образец инактивированной вакцины против ГВ, обеспечивающей выработку антител к HBsAg (anti-HBs). И только присутствие в ней остаточного инфекционного ВГВ не позволяло ученому применить ее на практике.

В 1974 г. Пауль Келер впервые продемонстрировал протективную активность anti-HBs - он установил, что введение этих антител детям, родившимся у HBsAg-позитивных матерей, в течение первой недели жизни достоверно снижало частоту развития у них ГВ. Это наблюдение не только послужило первым доказательством возможности пассивной иммунизации против ВГВ, но и предопределило направление исследований и разработок в области создания вакцины - стало ясно, что наиболее целесообразным является использование для иммунизации не цельных вирионов, а лишь их иммуногенной основы, в качестве которой должен выступать HBsAg.

Поэтому внимание разработчиков вакцины сконцентрировалось вокруг HBsAg, и важнейший вопрос, который им предстояло решить, касался источника получения HBsAg в количествах, необходимых для изготовления вакцины.

Наиболее простым решением этого вопроса стало использование для изготовления вакцины HBsAg, выделенного из плазмы крови больных острым и хроническим ГВ и "здоровых" носителей ВГВ. Уже в конце 70-х гг. несколькими группами исследователей были получены экспериментальные образцы высокоиммуногенных инактивированных вакцин на основе HBsAg, выделенного из плазмы инфицированных лиц.

Соответственно, эти вакцины получили общее название "плазменных".

В самом начале 80-х гг уже были получены лицензии на две высокоиммуногенные плазменные вакцины против ГВ: в США - крупным химико-фармацевтическим концерном "Merk Sharp & Dohm" и во Франции - Институтом Пастера в Париже. Испытания этих вакцин на шимпанзе и людях показали их высокую эффективность: 3-кратная иммунизация обеспечивала сероконверсию в 95-98% случаев и оказывала отчетливый протективный эффект в отношении инфицирования ВГВ.

цирования ВГВ.

Последующее широкомасштабное использование этих вакцин полностью подтвердило их эффективность, и менее, чем за 10 последующих лет, по данным ВОЗ, ими было иммунизировано свыше 5 млн человек. Эти вакцины и сегодня используются в ряде стран, внося свой вклад в дело профилактики ГВ.

Вместе с тем, изготовление плазменных вакцин было сопряжено с ограниченными возможностями получения достаточных объемов крови инфицированных лиц и с большими финансовыми затратами на стабилизацию свойств препарата и тщательную и длительную очистку выделяемого из плазмы HBsAg. Причем, несмотря на последнее, были высказаны опасения (как показало время, беспочвенные) по поводу не только присутствия в плазменных вакцинах "остаточного" ВГВ, но и возможной их контаминации посторонними вирусами. Это стимулировало поиски новых, более доступных вакцинных препаратов и, в первую очередь, источников для получения HBsAg.

Направления этих поисков было определено тремя обстоятельствами, связанными с прогрессом в области биологии и генетики.

Во-первых, к началу 80-х гг в лабораториях уже поддерживались в качестве клеточных культур несколько устойчивых линий клеток гепатоцеллюлярного рака, перманентно продуцирующих HBsAg, который можно было бы использовать для изготовления вакцины. На основе этой технологии действительно удалось создать несколько образцов "культуральных" вакцин против ГВ. Однако, данный подход оказался достаточно трудоемким и дорогим из-за необходимости постоянной культивации больших количеств весьма "капризных" в поведении эукариотных клеток. Кроме того, в качестве контраргументов против культуральных вакцин были высказаны опасения, что в составе таких вакцин могут оказаться пока не поддающиеся индикации геномы посторонних, в том числе, онкогенных вирусов. Такие же опасения, в свое время высказанные в отношении полиомиелитной вакцины, в которой были обнаружены фрагменты генома онкогенного вируса SV-40, серьезно беспокоили ученых на протяжении последующих тридцати лет.

Во-вторых, весьма привлекательным выглядел и путь получения вакцины на основе HBsAg, полученного непосредственно из аминокислот. Однако, развертыванию изысканий в этом направлении, по крайней мере, в то период, препятствовало то, что в конце 70-х гг. прошлого столетия технология направленного пептидного синтеза не достигла надлежащего уровня, а секвенирование основного белка HBsAg не было завершено.

В-третьих, к этому времени впечатляющих

успехов достигла технология получения рекомбинантных молекул ДНК и применения в получении ряда биологически активных веществ (гормонов, ферментов и др.) методов генной инженерии и клонирования прокариотных клеток с модифицированным геномом. Эти достижения раскрывали перспективы получения необходимых количеств HBsAg, которые могли бы использоваться в производстве вакцин.

Именно этот путь избрали исследователи из английской биофармацевтической компании Smith Cline Beecham - в то время одного из крупнейших в мире производителей вакцин вообще.

В качестве продуцента HBsAg были избраны пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, в геном которых был внедрен ген, детерминирующий синтез HBsAg. Брожение, вызванное такими, генетически модифицированными дрожжами, сопровождалось активной экспрессией этого гена и, как результат - продукцией в этих клетках большого количества HBsAg. Технология производства вакцины включала последующее разрушение дрожжевых клеток и очищение выделившегося из них HBsAg методами преципитации, центрифугирования и многоступенчатой хроматографии. Далее HBsAg адсорбировали на гидроксиде алюминия - адьюванте, широко используемом для усиления иммунного ответа к очищенному антигену. После проверки на иммуногенность, стабильность свойств, содержание дрожжевой ДНК и стерильность, вакцина считается готовой к употреблению. Основу названия вакцины было предложено образовать из начальных букв фразы "ENgenee-red with GENetic Recombination" - Engerix B.

В ходе изучения ее свойств было установлено, что сразу после введения вакцины содержащийся в ней HBsAg самопроизвольно объединяется в сферические частицы диаметром 20 нм, содержащие негликозилированный HBsAg и фосфолипидный матрикс. Эти частицы обладают всеми свойствами естественного HBsAg и захватываются антигенпрезентирующими клетками.

Далее формирование иммунного ответа происходит так же, как и в случае попадания в организм инфекционного вируса - образующиеся anti-HBs обладают способностью связывать ВГВ в крови, на слизистых и в межклеточном пространстве, позволяя организму справиться с инфекцией. Параллельно с этим, вакцинный процесс сопровождается формированием иммунологической памяти, обеспечивающей долгосрочный эффект вакцинации, который, как выяснилось позднее, обнаруживается на протяжении не менее 10 лет.

Лицензия на производство вакцины была получена в 1985 г. и уже спустя год она стала

первой рекомбинантной вакциной против ГВ, доступной для потребителей.

К 2004 г. во всем мире было использовано более 700 миллионов доз этой вакцины. Клинические испытания и наблюдения четко показали ее эффективность и безопасность. Судя по результатам многочисленных эпидемиологических наблюдений, ее профилактическая эффективность у детей и взрослых составляет 95-100%. Кроме того, было доказано, что эта вакцина пригодна для иммунизации беременных и может использоваться в комбинации с иммуноглобулином, содержащим высокий титр anti-HBs (для иммунизации младенцев, родившихся у HBsAg-позитивных матерей). Был обнаружен и ряд других полезных свойств, в частности, минимальный спектр противопоказаний и практическое отсутствие реактогенности, а также прекрасная переносимость детьми и взрослыми.

Эти и целый ряд других достоинств вакцины обеспечили ей долгую "жизнь" - она продолжает производиться уже на протяжении 20 лет (с 2000 г. компанией "Glaxo Smith Cline") по практически не изменившейся технологии (из ее состава был изъят лишь один компонент - тиомерсал).

За этот период на основании результатов использования, главным образом, вакцины Engerix B, были разработаны основные программы вакцинации: стандартная - для основной массы детей и взрослых, усиленная - для вакцинации иммунокомпрометированных лиц, а также для лиц, имеющих предикторы слабого иммунного ответа (пожилые люди, курильщики, лица с ожирением и др), ускоренная - для использования в особых эпидемиологических ситуациях.

Нельзя не отметить, что в настоящее время уже существуют и успешно применяются десятки рекомбинантных вакцин против ГВ, производимых в разных странах мира. Однако, их технология и состав не имеют существенных отличий от таковых вакцины Engerix B.

Несмотря на то, что первые вакцины, пригодные для иммунопрофилактики ГВ, появились более четверти века назад, оценка реальных возможностей иммунопрофилактики в обеспечении контроля этой инфекции далеко не всегда была однозначной, а осознание значения массовой вакцинации против ГВ и рациональной стратегии ее проведения в борьбе с этим заболеванием произошло не сразу.

Первоначально в развитых странах с низкой распространенностью инфекции вакцинация была направлена на иммунизацию представителей групп с высоким риском инфицирования (включая медицинских работников, деятельность которых связана с повышенным риском инфицирования). Так, в США реализация подобной программы была начата в 1981 г., а в европейских странах - с середины 80-х гг.

В 1983 г. группа экспертов ВОЗ, детально проанализировав результаты эпидемиологических исследований, посвященных выяснению характера взаимосвязи хронической инфекции, вызванной ВГВ, и рака печени, пришла к заключению о том, что вакцинация против ГВ в регионах с высоким уровнем носительства ВГВ и, соответственно, с широким распространением гепатоцеллюлярного рака, может стать эффективным средством для профилактики вирусассоциированного рака печени. Этот вывод означал идентификацию еще одной многочисленной группы, подлежащей иммунопрофилактике, и побудил начать вакцинацию среди населения отдельных стран Юго-Восточной Азии. Уже через 10 лет в некоторых из них, например, в Таиланде, было отмечено почти двухкратное снижение заболеваемости этим онкологическим заболеванием.

По мере накопления данных о результатах вакцинации в группах с высоким риском инфицирования становилось все очевиднее, что она позволила заметно снизить заболеваемость среди медицинских работников и в некоторых группах с высоким риском заражения. Наиболее демонстративным этот эффект оказался среди больных, подвергающихся гемодиализу - в странах, где эти больные вакцинировались, всего за несколько лет частота заболеваний ГВ в гемодиализных центрах снизилась в десятки раз.

В то же время, вакцинация представителей групп высокого риска не оказала ощутимого влияния на заболеваемость ГВ в основной популяции населения соответствующих стран в целом. Анализ причин такой ситуации позволил сделать вывод о том, что отсутствие ощутимого влияния вакцинации в группах высокого риска на заболеваемость населения в целом, по всей вероятности, связано с тем, что риск хронизации острого ГВ у взрослых лиц значительно ниже, чем у детей. Это означало, что, вакцинируя детей и подростков, можно более эффективно изменить структуру популяционного иммунитета к ГВ и, тем самым, создать в общей популяции населения условия, препятствующие активной циркуляции в ней ВГВ.

Лишь после того, как сформировалось представление о том, что снизить заболеваемость можно только путем массовой вакцинации детей, многие развитые страны перешли к массовой вакцинации новорожденных детей и подростков: она стала применяться с 1991 г. в США и с 1992 г. (в европейских странах в 1993 г. их число составило 4, но уже в 1998 г. оно достигло 20).

Результаты проспективных наблюдений в странах, где проводилась массовая вакцинация детей и подростков, подтвердили эффективность такого подхода: первоначально было отмечено

почти десятикратное снижение числа хронических носителей ВГВ, а в дальнейшем - значительное снижение заболеваемости ГВ среди населения в целом.

Эффективность иммунизации грудных детей весьма наглядно можно продемонстрировать на примере Италии - страны с высокой заболеваемостью ГВ, в которой вакцинация детей и подростков проводится уже много лет. Так, если в 1987 г. в одном из ее регионов заболеваемость ГВ составляла 63 случая на 100 тыс человек, то уже через 5 лет после начала массовой вакцинации новорожденных этот показатель снизился до 1, а спустя 10 лет в этом же регионе случаи заболевания ГВ перестали регистрироваться вообще. Отметим, что в этом же регионе было отмечено и снижение удельного веса хронического ГВ с 48,2% в 1982 г. до 18,2% в 1997 г.

В 1989 г. на конференции ВОЗ в Женеве было принято решение разработать Расширенную программу иммунизации против ГВ на 20 лет с целью ликвидации ГВ в глобальном масштабе. В 1991 г. Международная консультативная группа этой программы ВОЗ рекомендовала всем странам включить вакцинацию против ГВ в национальные программы по иммунизации детей и подростков. Уже в 1992 г. Всемирная медицинская ассамблея (ВМА) одобрила это предложение и рекомендовала включить вакцинацию против ГВ в национальные программы иммунизации в 2 этапа: к 1995 г. - в странах с высоким уровнем носительства HBsAg (порядка 8% населения) и 1997 г. - в остальных странах.

В 1994 г. ВМА поставила задачу по кардинальному снижению частоты инфицирования детей не менее, чем на 80%. В этом документе содержались рекомендации в странах с уровнем носительства HBsAg не менее 2% включить вакцинацию против ГВ в календарь обязательных прививок для детей, а в странах с меньшим уровнем носительства этого антигена - вместо него (или параллельно с ним) проводить целенаправленную вакцинацию подростков и молодых людей. Эти же рекомендации допускали использовать различную тактику вакцинации лиц из групп с высоким риском инфицирования ВГВ, в зависимости от особенностей эпидемиологической ситуации в каждой конкретной стране. И, наконец, в 1998 г. Группа Советников Европейского бюро ВОЗ определила основные цели борьбы с ГВ: к 2002 г. все страны с распространенностью носительства HBsAg в популяции 2% и выше должны проводить вакцинацию всех грудных детей, а к 2005 г. все страны должны достичь 90% охвата тремя прививками против ГВ в группах, подлежащих вакцинации.

Предворение в жизнь этой стратегии привело к тому, что к 2000 г. в мире было провакцинировано более 1 млрд человек, а вакцинация

против ГВ в была включена в национальные программы иммунизации детей и подростков во многих странах: уже к 1996 г. их число перевалило за 80, а в 2002 г. - превысило 120. А поскольку именно в этих странах проживает более половины всех хронических носителей ВГВ и рождается около половины всех вновь появившихся в мире детей, можно надеяться, что уже в обозримом будущем задача по кардинальному снижению частоты инфицирования детей, поставленная ВМА, будет в основном решена.

Здесь же уместно коснуться вопроса, решение которого влияло на позицию мирового медицинского сообщества при оценке целесообразности широких масштабов вакцинации против ГВ. Дело в том, что расширение практики вакцинации против ГВ было неизбежно сопряжено с немалыми экономическими издержками как на приобретение вакцин, так и на мероприятия, связанные с широкомасштабной иммунизацией в границах целых государств.

Это обстоятельство поначалу было воспринято в качестве аргумента, демонстрирующего нецелесообразность проведения массовой вакцинации населения стран с низким уровнем распространения ГВ. Однако, вскоре были получены результаты экономических расчетов, не оставлявшие сомнений в экономической целесообразности такой вакцинации - согласно этим данным, если учитывать как возможные затраты на лечение, так и экономические потери, связанные с временной нетрудоспособностью заболевших, то вакцинация только детей и подростков только в США и Канаде сможет привести экономии 75 долларов на человека.

Значение высокой стоимости вакцины против ГВ в качестве фактора, ограничивающего расширение масштабов массовой иммунизации населения, оказалось особенно ощутимым для развивающихся стран с ограниченными бюджетными ассигнованиями на сферу здравоохранения. Однако, надо отметить, что зачастую именно в этих странах распространение ГВ оказывалось наиболее широким. Поэтому перед национальными службами этих стран вставала сложная задача по выбору правильной стратегии борьбы с ГВ. И, если судить по увеличению числа стран, включивших вакцинацию в календари прививок, то можно видеть, что в большинстве стран вопрос о целесообразности проведения вакцинации против ГВ был решен положительно.

Завершая обсуждение данного вопроса, можно привести результаты проведенного в 2000 г. в Бельгийском институте эпидемиологии и социальной медицины метаанализа данных, полученных более, чем в трехстах наблюдениях, которые отчетливо продемонстрировали экономическую оправданность массовой вакцинации

населения во всех регионах мира, за исключением, возможно, только стран с крайне низкой заболеваемостью ГВ.

Итак, сегодня уже доказано, что рациональное применение вакцинации позволяет: а) снизить заболеваемость острым ГВ не только среди представителей некоторых групп с высоким риском инфицирования, но и среди остального населения регионов; б) снизить заболеваемость населения хроническим ГВ и циррозом печени; в) ограничить распространение инфекции и снизить количество носителей ВГВ, г) снизить заболеваемость раком печени в эндемичных по ГВ регионах и д) осуществлять иммунопрофилактику и, соответственно, контроль вирусного гепатита D.

В заключение, следует особо подчеркнуть, что, несмотря на уже достигнутые успехи в борьбе с ГВ, это заболевание и сегодня продолжает сохранять свое значение в качестве фактора, создающего угрозу здоровью человечества и создающего немалые медицинские и социально-экономические проблемы.

Согласно ориентировочным подсчетам, проведенным известными специалистами, еще 5 лет назад в мире насчитывалось не менее 2 млрд человек, инфицированных ВГВ или перенесших ГВ, причем, если непосредственно от острого и хронического ГВ ежегодно погибает до 25 тыс человек, то число ежегодно умирающих от его отдаленных осложнений (цирроз и рак печени) достигает 2,5 миллионов.

Кроме того, следует особо подчеркнуть, что достаточно высокие показатели хронизации инфекции (до 15% у взрослых и до 90% у маленьких детей) делают особенно значимыми хронические формы этой инфекции. Так, упомянутые расчеты указывают на то, что в 2000 г. число людей с различными формами хронической инфекции, вызванной ВГВ, и носителей этого вируса в мире достигает 400 млн, причем, это число продолжает ежегодно возрастать на несколько миллионов.

Между тем, возможности эффективной терапии хронического ГВ и его осложнений пока остаются ограниченными, а средства для этиотропной терапии этого заболевания - малодоступными для малообеспеченных слоев населения, и прежде всего, в развивающихся странах Азии и Африки, где эта инфекция распространена особенно широко. В то же время, отказ от применения этого лечения может привести к фатальным для больных последствиям - от 15 до 25% больных хроническим ГВ могут умереть от цирроза или рака печени.

Изложенные выше данные могут послужить убедительным аргументом, подтверждающим справедливость позиции такого авторитета, как академик В.М.Жданов, который еще четверть века назад высказал мнение о том, что ГВ, как

социально значимая патология, не утратит своего значения и в XXI веке.

Разумеется, что мировое здравоохранение, наряду с вакцинацией, использует все возможные пути и средства, в принципе пригодные для борьбы с ГВ. Однако, по эффективности они едва ли сопоставимы с вакцинацией.

В частности, как показывает практика, даже самый строгий контроль за качеством переливаемой крови и ее компонентов не гарантирует предотвращения случаев трансфузионной передачи вируса, а ужесточение требований по соблюдению надлежащих санитарно-гигиенических правил поведения медицинского и технического персонала в медицинских учреждениях не исключает возможности их нарушений.

Поскольку ВГВ до сих пор остается "рекордсменом" в резистентности вирусов к неблагоприятным факторам внешней среды и устойчивости к воздействию дезинфектантов, дальнейшее повышение эффективности дезинфекционных и стерилизационных мероприятий также не позволяет решить задачу по предотвращению распространения инфекции в медицинских учреждениях.

Поскольку расширению практики этиотропного лечения (эффективность которого, к тому же, пока не может считаться идеальной) многомиллионной "армии" больных хроническим ГВ серьезно препятствует высокая стоимость лекарственных препаратов, этот путь также не способен привести к ощутимому уменьшению числа потенциальных источников инфекции и серьезно сказаться на эпидемиологической ситуации в целом.

Можно было надеяться, что по мере расширения сферы проведения и совершенствования методов работы по санитарному просвещению населения эпидемиологическая обстановка в мире по ГВ улучшится.

Однако, отсутствие существенных успехов в борьбе с наркоманией, продолжающаяся либерализация нравов и проводимая в ряде стран политика проксентеизма в сфере сексуальных отношений пока не дает оснований для таких надежд.

Принимая во внимание ограниченность профилактических возможностей отмеченных выше подходов, приходится признать, что единственным наиболее эффективным методом контроля заболеваемости является вакцинация против ГВ, которая рассматривается как "золотой" стандарт профилактики этой инфекции. Соответственно, вакцины против ГВ, уже снискавшие себе репутацию наиболее эффективных средств для дальнейшей борьбы с этой инфекцией, сохраняют за собой исключительно важную роль в борьбе с ГВ во всем мире и в обозримом будущем. Этот вывод вытекает из того, что сегодня уже ясно, что дальнейшая борьба с ГВ будет непростой.

Первые успехи массовой вакцинации против ГВ послужили основой для высказывания весьма оптимистических прогнозов. Так, в резолюцию, принятую на уже упоминавшейся выше конференции ВОЗ (1989), было включено положение о том, что путем проведения массовой вакцинации и разработки эффективной терапии хронических форм заболевания, ГВ может быть ликвидирован в мире уже к 2010 г. Однако, время показало, что для полной победы над этой инфекцией потребуются более длительный период времени и более интенсивные усилия медиков и мирового сообщества, поскольку даже вакцинопрофилактика ГВ имеет свои слабые стороны, а ее успех зависит и ряда сторонних обстоятельств.

Вместе с тем, сегодня крупные авторитеты убеждены, что последовательное и неуклонное расширение масштабов вакцинации в итоге способно обеспечить принципиальную возможность снизить заболеваемость ГВ и ограничить распространенность этой инфекции в глобальном масштабе, а со временем и решить задачу по полной ликвидации этого заболевания.

Именно поэтому наиболее перспективным направлением профилактики этой инфекции остается вакцинация.

**М.К.Мамегов**  
**Научно-консультативный центр**  
**гепатологии, г.Баку**