

ЖУРНАЛ ИНФЕКТОЛОГИИ

JURNAL INFEKTOLOGII

Официальное издание Межрегиональной общественной организации
«Ассоциация врачей-инфекционистов Санкт-Петербурга
и Ленинградской области»

Главный редактор
академик РАМН Ю.В. ЛОБЗИН

Том 5, № 1, 2013

ЖУРНАЛ ИНФЕКТОЛОГИИ

Главный редактор

академик РАМН д.м.н. профессор
Лобзин Ю.В.

Ответственный секретарь

д.м.н. профессор Гусев Д.А.

Редакционная коллегия

д.м.н. профессор Антонова Т.В. (зам. гл. редактора)
д.м.н. Бабаченко И.В.
академик РАМН д.м.н. профессор
Беляков Н.А.
к.м.н. доцент Волжанин В.М.
д.м.н. профессор Воронин Е.Е.
член-кор. РАМН
д.м.н. профессор Жебрун А.Б.
д.м.н. профессор Жданов К.В. (зам. гл. редактора)
академик РАМН
д.м.н. профессор Киселев О.И.
д.м.н. профессор Клишко Н.Н.
д.м.н. профессор Коваленко А.Ю.
д.м.н. профессор Котив Б.Н.
к.м.н. Левандовский В.В.
д.м.н. Лиознов Д.А.
д.м.н. профессор Нечаев В.В.
д.м.н. профессор Огарков П.И.
д.фарм.н. Рудакова А.В.
д.м.н. профессор Сидоренко С.В.
д.м.н. профессор Скрипченко Н.В.
д.м.н. профессор Усков А.Н.
д.м.н. профессор Харит С.М.
д.м.н. профессор Цинзерлинг В.А.
д.м.н. профессор Цыган В.Н.
д.м.н. профессор Эсауленко Е.В.
д.м.н. профессор Яковлев А.А.

Редакционный совет

д.м.н. профессор Амброзайтис А. (Литва)
д.м.н. профессор Ахмедова М.Д. (Узбекистан)
академик РАМН
д.м.н. профессор Зверев В.В. (Москва)
член-кор. РАМН
д.м.н. профессор Иванова В.В. (Санкт-Петербург)
д.м.н. профессор Исаков В.А. (Москва)
д.м.н. профессор Кожевникова Г.М. (Москва)
академик РАМН
д.м.н. профессор Львов Д.К. (Москва)
академик РАМН
д.м.н. профессор Малеев В.В. (Москва)
д.м.н. профессор Малов И.В. (Иркутск)
д.м.н. профессор Малышев Н.А. (Москва)
д.м.н. профессор Михайлов М.И. (Москва)
д.м.н. профессор Мукомолов С.Л. (Санкт-Петербург)
д.м.н. профессор Мусабаев Э.И. (Узбекистан)
академик РАМН
д.м.н. профессор Онищенко Г.Г. (Москва)
профессор Павлоцкий Ж.-М. (Франция)
профессор Папатеодоридис Дж. (Греция)
академик РАМН
д.м.н. профессор Покровский В.В. (Москва)
академик РАМН
д.м.н. профессор Покровский В.И. (Москва)
профессор Прати Д. (Италия)
д.м.н. профессор Рахманова А.Г. (Санкт-Петербург)
д.м.н. профессор Семенов В.М. (Беларусь)
академик РАМН
д.м.н. профессор Сергиев В.П. (Москва)
д.м.н. профессор Сологуб Т.В. (Санкт-Петербург)
д.м.н. профессор Сыздыков М.С. (Казахстан)
д.м.н. профессор Тимченко В.Н. (Санкт-Петербург)
академик РАМН
д.м.н. профессор Тотолян А.А. (Санкт-Петербург)
академик РАМН
д.м.н. профессор Учайкин В.Ф. (Москва)
иностранный член РАМН
профессор Франко де Роза (Италия)
к.м.н. профессор Широкова В.И. (Москва)

JURNAL INFЕКТОLOGII

Editor in Chief

member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Lobzin Yu.V.

Executive secretary

M.D. professor Gusev D.A.

Editorial board

M.D. professor Antonova T.V. (deputy editor)
M.D. Babachenko I.V.
member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Belakov N.A.
C.M.S. docent Volzhanin V.M.
M.D. professor Voronin E.E.
corresponding member of the Russian Academy
of Medical Sciences M.D. professor Zhebrun A.B.
M.D. professor Zhdanov K.V. (deputy editor)
member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Kiselev O.I.
M.D. professor Klimko N.N.
M.D. professor Kovalenkov A.Yu.
M.D. professor Kotiv B.N.
C.M.S. Levandovskiy V.V.
M.D. Lioznov D.A.
M.D. professor Nechaev V.V.
M.D. professor Ogarkov P.I.
Pharm.D. Rudakova A.V.
M.D. professor Sidorenko S.V.
M.D. professor Skripchenko N.V.
M.D. professor Uskov A.N.
M.D. professor Harit S.M.
M.D. professor Zinserling V.A.
M.D. professor Tsygan V.N.
M.D. professor Esaulenko E.V.
M.D. professor Yakovlev A.A.

Editorial council

M.D. professor Ambrozaytis A. (Litova)
M.D. professor Achmedova M.D. (Uzbekistan)
member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Zverev V.V. (Moscow)
corresponding member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Ivanova V.V. (Saint-Petersburg)
M.D. professor Isakov V.A. (Moscow)
M.D. professor Kozhevnikova G.M. (Moscow)
member of the Russian Academy of Medical Sciences
Lvov D.K. (Moscow)
member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Maleev V.V. (Moscow)
professor Malov I.V. (Irkutsk)
M.D. professor Malyshev N.A. (Moscow)
M.D. professor Mihajlov M.I. (Moscow)
M.D. professor Mukomolov S.L. (Saint-Petersburg)
M.D. professor Musabaev E. I. (Uzbekistan)
member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Onishenko G.G. (Moscow)
M.D. professor Pawlotsky J.-M. (France)
M.D. professor Papatheodoridis G. (Greece)
member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Pokrovskiy V.V. (Moscow)
member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Pokrovskiy V. I. (Moscow)
M.D. professor Prati D. (Italy)
M.D. professor Rachmanova A.G. (Saint-Petersburg)
M.D. professor Semenov V.M. (Belarus)
member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Sergiev V.P. (Moscow)
M.D. professor Sologub T.V. (Saint-Petersburg)
M.D. professor Sizdikov M.S. (Kazakhstan)
M.D. professor Timchenko V.N. (Saint-Petersburg)
member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Totolan A.A. (Saint-Petersburg)
member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Uchaykin V.F. (Moscow)
foreign member of the Russian Academy of Medical Sciences
M.D. professor Franko de Roza (Italy)
C.M.S. professor Shirokova V.I. (Moscow)

Журнал включен в перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук

«Журнал инфектологии» – периодическое научно-практическое рецензируемое издание.

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере массовых коммуникаций, связи и охраны культурного наследия.

Свидетельство о регистрации ПИ №ФС 77-33952 от 01.11.2008 г. Издается ежеквартально. Тираж 500 экз.

Полное или частичное воспроизведение материалов, содержащихся в издании, допускается с письменного разрешения редакции.

Ссылка на «Журнал инфектологии» обязательна.

Адрес редакции: 197022, Санкт-Петербург, улица Профессора Попова, д. 9, тел: 8(812)234-60-04; факс: 8(812)234-96-91; e-mail: gusevden-70@mail.ru

Индекс для подписки в Каталоге российской прессы «Почта России» 74516

Журнал входит в индекс научного цитирования www.elibrary.ru. Статьи из журнала доступны на сайте www.niidi.ru

СОДЕРЖАНИЕ

Лекция

- К.В. Жданов, М.В. Яременко, Ю.П. Финогеев, С.М. Захаренко*
Иммуно-патогенетические аспекты лихорадки у инфекционных больных 5

Обзор

- А.Л. Позняк, С.Н. Сигорчук, А.В. Тарасов*
Chlamydomphila pneumoniae-инфекция как фактор риска развития атеросклероза (обзор литературы) 18

Оригинальное исследование

- Р.А. Ушакова, О.П. Ковтун, И.Е. Валамина, Н.Б. Блинкова, Я.М. Крохалева, Л.М. Зигулева, М.А. Шварц, С.Н. Тупоногов, А.М. Николаева*
Клинико-морфологические варианты дебюта гепатитов при врождённой цитомегаловирусной инфекции и гепатите С 28

- М.Ю. Аверьянова, В.Н. Вавилов, С.Н. Бондаренко, О.С. Успенская, Н.В. Станчева, Е.В. Семенова, А.Г. Волкова, Б.И. Смирнов, И.Б. Баранова, Л.С. Зубаровская, Н.Н. Климко, Б.В. Афанасьев*
Бактериальные инфекции у пациентов детского и подросткового возраста после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток: этиология, структура, факторы риска.....35

- Е.С. Алешковская, Н.А. Благоев, В.А. Базунова*
Клинико-эпидемиологические аспекты смешанных клещевых инфекций в эндемичном регионе 44

- В.Б. Денисенко, Э.Н. Симованьян, В.В. Пушкарная*
Независимые предикторы вертикальной трансмиссии цитомегаловируса у детей с перинатальным контактом по ВИЧ 48

- Е.В. Степанова, О.Н. Леонова, А.С. Шеломов, Н.В. Фоменкова, Н.Е. Дементьева, Н.А. Беляков*
Клиническое значение парного определения ВИЧ-1 у больных в крови и цереброспинальной жидкости 55

- В.Н. Тимченко, Ю.А. Архипова, Н.Д. Джангавадзе*
Иммунологические и лабораторные особенности ВИЧ-инфекции у детей первого года жизни 63

- М.С. Селькова*
Цитофлуориметрический анализ содержания цитотоксических клеток у пациентов с хроническим гепатитом С 69

- И.Ю. Чичерин, И.П. Погорельский, И.А. Лундовских, Е.А. Бессолицына, И.В. Дармов, М.Р. Шабалина*
Колонизационная резистентность слизистой оболочки кишечника при экспериментальном иерсиниозе.....75

CONTENTS

Lecture

- K.V. Zhdanov, M.V. Yaremenko, Yu.P. Finogeev, S.M. Zakharenko*
Clinical and pathogenetic aspects of fever in patients with infectious diseases 5

Review

- A.L. Poznyak, S.N. Sidorchuk, A.V. Tarasov*
Chlamydomphila pneumoniae infection and its contribution to atherosclerosis (literature review) 18

Original Research

- R.A. Ushakova, O.P. Kovtun, I.E. Valamina, N.B. Blinkova, Ya.M. Krohaleva, L.M. Ziguleva, M.A. Shvarts, S.N. Tuponogov, A.M. Nikolaeva*
Clinical and morphological variants of hepatitis onset with congenital cytomegalovirus and hepatitis C infection 28

- M.Yu. Averyanova, V.N. Vavilov, S.N. Bondarenko, O.S. Uspenskaya, N.V. Stancheva, E.V. Semenova, A.G. Volkova, B.I. Smirnov, I.B. Baranova, L.S. Zubarovskaya, N.N. Klimko, B.V. Afanasyev*
Bacterial infections in pediatric and adolescent in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients: etiology, structure, risk factors 35

- E.S. Aleshkovskaya, N.A. Blagov, V.A. Bazunova*
Clinico-epidemiological aspects of the mixed tick-borne infections in the endemic region.....44

- V.B. Denisenko, E.N. Simovanian, V.V. Pushkarnaya*
Independent predictors of cytomegalovirus vertical transmission in children with perinatal HIV contact 48

- E.V. Stepanova, O.N. Leonova, A.S. Shelomov, N.V. Fomenkova, N.E. Dementyeva, N.A. Belyakov*
Clinical value of HIV-1 matched detection in patients' blood and cerebrospinal fluid 55

- V.N. Timchenko, Yu.A. Arkhipova, N.D. Dzhangavadze*
Immunological and laboratory features of HIV infection in infants of the first year of life.....63

- M.S. Selkova*
Flow cytometry analysis of cytotoxic cells in patients with chronic hepatitis C.....69

- I.Yu. Chicherin, I.P. Pogorelsky, I.A. Lundovskikh, E.A. Bessolitsyna, I.V. Darmov, M.R. Shabalina*
Colonization resistance of the intestinal mucosa in experimental yersiniosis.....75

<i>О.О. Знойко, М.В. Маевская, Е.А. Климова, С.А. Максимов, С.Н. Кижло, Н.А. Петроченкова, Ф.И. Нагимова, Р.А. Иванов, Ю.Н. Линькова, Т.В. Черновская</i>	
Ранний вирусологический ответ при использовании препарата цепагинтерферона альфа-2b в комбинации с рибавирином в терапии хронического гепатита С	83
<i>В.Е. Карев, Ю.В. Лобзин, В.А. Цинзерлинг</i>	
Сравнительная характеристика клинического течения, повреждения и регенерации печени при хронической HBV- и HCV-инфекции	91
<i>Т.А. Даминов, Л.Н. Туйчиев, Н.У. Таджиева, Б.А. Кадыров, Д.Ф. Раимкулова, З.П. Улимбекова</i>	
Клинико-эпидемиологическая характеристика пневмококковых менингитов у детей	99
Клинический случай	
<i>Н.В. Скрипченко, Е.М. Мазаева, М.К. Бехтерева, М.В. Иванова</i>	
Особенности течения менингоэнцефалита у ребенка со смешанной бактериальной инфекцией (клинический случай)	103
Хроника	108
Правила для авторов	117

<i>O.O. Znoyko, M.V. Maevskaya, E.A. Klimova, S.L. Maksimov, S.N. Kizhlo, N.A. Petrochenkova, F.I. Nagimova, R.A. Ivanov, Yu.N. Linkova, T.V. Chernovskaya</i>	
Early virologic response to cepeginterferon alfa-2b in combination with ribavirin in treatment of patients with chronic hepatitis C	83
<i>V.E. Karev, Yu.V. Lobzin, V.A. Cinslerling</i>	
The comparative description of clinical course, injury an regeneration of liver while chronic HBV- and HCV- infections course	91
<i>T.A. Daminov, L.N. Tuychiev, N.U. Tadjiev, B.A. Kadyrov, D.F. Raimkulova, Z.P. Ulimbekova</i>	
Clinical and epidemiological characteristics of pneumococcal meningitis in children.....	99
Clinical Case	
<i>N.V. Skripchenko, E.M. Mazaeva, M.K. Bekhtereva, M.V. Ivanova</i>	
Features of a current meningoencefalitis at child with the mixed bacterial infection (clinical cases)	103
Chronicle	108
Instruction to autor	117

CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE-ИНФЕКЦИЯ КАК ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

А.Л. Позняк¹, С.Н. Сидорчук², А.В. Тарасов³

¹Научно-исследовательский институт детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

³Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова, Санкт-Петербург

Chlamydomphila pneumoniae infection and its contribution to atherosclerosis (literature review)

A.L. Poznyak¹, S.N. Sidorchuk², A.V. Tarasov³

¹Science Research Institute of Children's Infections of FMBA of Russia, Saint-Petersburg

²Military Medical Academy named after S.M. Kirov, Saint-Petersburg

³Russian Center of Emergency and Radiation Medicine named after A.M. Nikiforov, Saint-Petersburg

Резюме. Распространенность атеросклероза и ассоциированных с ним заболеваний и осложнений создает предпосылки к изучению их в рамках единого патологического процесса. В обзоре представлены современные сведения о роли *Chlamydomphila pneumoniae*-инфекции, а также данные о влиянии факторов системного и локального воспаления при указанной инфекции на развитие атеросклероза.

Ключевые слова: *Chlamydomphila pneumoniae*, инфекция, воспаление, атеросклероз.

Abstract. The prevalence of atherosclerosis and associated diseases and complications creates preconditions to study them in the framework of the common pathological process. This review presents the modern data on the role of *Chlamydomphila pneumoniae* infections, as well as data about the influence of the factors of systemic and local inflammation at the infection to the development of atherosclerosis.

Key words: *Chlamydomphila pneumoniae*, infection, inflammation, atherosclerosis.

Введение

Атеросклероз является ключевым фактором, приводящим к развитию заболеваний, обусловленных хронической или остро развившейся недостаточностью кровообращения различных органов и систем. В частности, в 2008 г. ишемическая болезнь сердца (ИБС) послужила непосредственной причиной смерти у 7,3 млн человек. 6,2 млн человек погибло от нарушений мозгового кровообращения. По прогнозам, к 2030 г. смертность от сердечно-сосудистых заболеваний достигнет уже 23,6 млн человек [1]. Ассоциированные с атеросклерозом заболевания и их осложнения в настоящее время являются наиболее распространенными в мире.

В дискуссиях по вопросам этиопатогенеза атеросклероза фигурирует не устоявшееся представление о единой этиологии, а совокупность различных теорий, описывающих некоторые патогенетические механизмы развития, и около 400 усугубляющих данное заболевание факторов. Основными факторами риска развития атеросклероза являются артериальная гипертензия, гиперхолестеринемия, курение, сахарный диабет. В то же время 50% людей, страдающих различными формами ишемической болезни сердца (ИБС), перенесших острые

нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), не имеют каких-либо общепризнанных факторов риска атеросклероза [2].

Камнем преткновения любой неинфекционной теории атеросклероза является отсутствие возможности дать объективный ответ на важный вопрос: что же инициирует адгезию циркулирующих моноцитов крови к эндотелию и инфильтрацию ими сосудистой стенки с последующим формированием пенистых клеток? Именно поэтому в настоящее время глубоко изучается роль различных микробных возбудителей и их ассоциаций в качестве возможного связующего звена между процессами воспаления и атерогенеза [3]. В пользу хламидофильной теории атеросклероза свидетельствуют результаты изучения адгезии и инфильтрации моноцитами стенок сосудов, что является закономерным воспалительным ответом на инфицирование хламидофилами эндотелия и гладкомышечных клеток [4].

В связи с этим в данной статье сделан акцент на современные представления о патогенезе атеросклероза с точки зрения хламидофильной теории, которая не противоречит, а наиболее логично объединяет в себе положения теорий липопр-

теидной инфильтрации, дисфункции эндотелия, аутоиммунной, моноклональной и других. Проведен анализ современных литературных данных по клинико-инструментальным и лабораторным исследованиям, которые обосновывают патогенетическое значение хламидофильной инфекции в развитии атеросклероза.

Предпосылки к изучению хламидофильной теории атеросклероза

Эпоха изучения хламидофил как вероятного этиологического фактора атеросклероза берет начало с 1988 г., когда P. Saikku et al. впервые серологическими методами выявили связь инфицирования *C. pneumoniae* со стенокардией и инфарктом миокарда (ИМ) [5]. В пользу того, что атеросклероз начинает развиваться еще с детства, свидетельствуют данные финских исследователей о том, что у практически здоровых детей в возрасте от 7 до 11 лет с повышенными титрами специфических антител (IgG и IgA к *C. pneumoniae*) толщина комплекса интим-медиа аорты была достоверно больше, чем у детей из аналогичной возрастной группы, но без признаков инфицирования хламидофилами [6]. Японские авторы у 160 пациентов выявили связь развития ИМ с хламидофильной инфекцией. Выводы были сделаны на основании серологических исследований, результаты которых указывали на достоверное повышение титров специфических IgG и IgA к *C. pneumoniae* у пациентов с ИМ [7]. В целом, несмотря на доказанную сероэпидемиологическими исследованиями связь атеросклероза с хламидофильной инфекцией, в настоящее время остаются неразрешенными противоречия, которые обусловлены тем, что для хламидофильной инфекции характерна вариабельность начала формирования, выраженности и продолжительности гуморального иммунного ответа, что существенно осложняет трактовку как положительных, так и отрицательных результатов серологических методов исследования. В настоящий момент возможно обеспечить удовлетворительную серологическую дифференциальную диагностику только двух противоположных состояний — «инфекция есть» или «инфекции нет, но есть остаточная серопозитивность». Основанием для первого заключения являются одновременно позитивные ответы тестов на IgA и IgG или только на IgA в любых титрах, для второго — только на IgG. Серологические методы исследования также не позволяют точно определить, является ли инфекция латентной или активной [8, 9].

Кроме сероэпидемиологических исследований, связь инфекции с сердечно-сосудистыми болезнями изучается при определении ДНК *C. pneumoniae* в циркулирующих моноцитах крови (ЦМК). Так, по данным немецких ученых,

наличие хламидофильной ДНК в ЦМК является независимым фактором риска развития атеросклероза, так как достоверно связано с увеличением толщины комплекса интим-медиа у обследованного контингента [10]. В то же время обнаружение *C. pneumoniae* в ЦМК достоверно не подтверждает наличия вторичных очагов инфекции в стенке сосудов. Результаты доступных семи исследований, направленных на изучение корреляции между наличием ДНК бактерий в сосудистой стенке и в ЦМК, несколько разнятся. Так, при детекции *C. pneumoniae* в атеросклеротической бляшке более чем у 30% пациентов бактерия может быть обнаружена в ЦМК в 94–100% случаев. С другой стороны, если *C. pneumoniae* обнаруживается в ЦМК у 40% пациентов, то это связано с наличием бактерий в атеросклеротических бляшках уже у 71–93% обследованных. До настоящего времени не утверждены единые алгоритмы забора крови, экстракции ДНК и методики проведения ПЦР, что пока делает невозможным определение показаний для проведения антихламидофильной терапии у пациентов с атеросклеротически измененными сосудами [11].

Молекулярно-биологические методы диагностики (полимеразная цепная реакция, ПЦР real-time) являются методами как определения специфического участка ДНК, так и выявления специфических молекул РНК возбудителя путем их многократного копирования (NASBA — nucleic acid sequence based amplification) [8].

Культуральный метод, достаточно хорошо зарекомендовавший себя при диагностике инфекций, вызываемых *C. trachomatis*, менее эффективен при изоляции *C. pneumoniae*. Отмечено, что возбудитель плохо размножается в культуре клеток, обычно используемых для культивирования хламидий, а некоторые штаммы *C. pneumoniae* не размножаются в куриных эмбрионах. При хронических формах *C. pneumoniae*-инфекции в большинстве случаев культуральный метод диагностики дает отрицательные результаты [8, 11].

Опубликованные данные 43 гистопатологических исследований, направленных на непосредственное обнаружение *C. pneumoniae* в атеросклеротической бляшке с использованием трансмиссионной электронной микроскопии, также достаточно противоречивы. Частота обнаружения *C. pneumoniae* в этих исследованиях варьируется от 0 до 100%, что связано с определенной долей субъективизма, присущего авторам работ [9, 11].

Экспериментальные исследования, проведенные на кроликах и мышах, доказали способность острой инфекции *C. pneumoniae* инициировать атеросклеротический процесс. Наличие хронической инфекции у животных при сопутствующей гиперхолестеринемии также способно ускорять

прогрессирование имеющегося атеросклероза. Но, разумеется, полученные результаты сложно экстраполировать на человека, у которого атеросклероз развивается годами [9, 11].

С точки зрения современных представлений о лечении хламидофильной инфекции, становится очевидно, почему клинические исследования, направленные на изучение возможности лечения атеросклероза антибиотиками, в большинстве своем не принесли ожидаемых результатов [9, 11]. Метаболически неактивные, персистирующие формы микроорганизмов, находящиеся в стенках артерий, в большинстве случаев не чувствительны к антибиотикам. Поэтому не всегда длительное и комплексное лечение может быть эффективным. До назначения антибиотиков в терапию необходимо включать иммуномодуляторы, полиферментные препараты. Сама антибиотикотерапия должна быть как минимум двух- либо трехкомпонентной и проводиться длительное время. Все эти меры в конечном итоге должны привести к замещению содержимого некротического ядра атеросклеротической бляшки миофибробластами и к остановке атеросклеротического процесса [4].

***Chlamydomphila pneumoniae*-инфекция: биологические особенности возбудителя, основы патогенеза**

Хламидии — грам-отрицательные бактерии, классифицируемые в семейство Chlamydiaceae, роды Chlamydia (вид Chlamydia trachomatis, Chlamydia suis, Chlamydia muridarum) и Chlamydomphila (виды Chlamydomphila pneumoniae, Chlamydomphila pecorum, Chlamydomphila psittaci, Chlamydomphila abortus, Chlamydomphila caviae, Chlamydomphila felis). Патогенными для человека являются виды Chlamydia trachomatis, Chlamydomphila pneumoniae, Chlamydomphila psittaci [12].

Chlamydomphila pneumoniae (*C. pneumoniae*) — обнаруженный в атеросклеротической бляшке вид бактерии, включающий несколько сероваров. [4]. *C. pneumoniae* — респираторный возбудитель, который является причиной 10–22% случаев пневмоний, 5–10% случаев бронхитов и синуситов [13, 14]. Заболевания, вызываемые *C. pneumoniae*, относятся к абсолютным антропонозам. Больные, а также инфицированные с бессимптомными и манифестными формами, являются источником инфекции. Проведенные сероэпидемиологические исследования показали наличие антител к *C. pneumoniae* у 60% взрослого населения земного шара [15]. Доля серопозитивных лиц в возрасте от 5 до 20 лет составляет 30%, в более старших возрастных группах этот показатель уже приближается к 75% [16, 17].

Хламидии и родственные к ним микроорганизмы — это облигатные внутриклеточные бакте-

рии с двухфазным циклом развития, характеризующимся чередованием двух морфологически различных форм — элементарного тельца (ЭТ) и ретикулярного тельца (РТ). Переходные формы в цикле развития хламидий определяются как промежуточные тельца (ПТ).

ЭТ — высокоинфекционная форма возбудителя, клетка сферической формы диаметром 200–300 нм, характерными особенностями которой являются способности стимулировать собственный эндоцитоз чувствительной клеткой, ингибировать слияние лизосом с содержащей хламидофилу вакуолью, не образуя эндосомы. В атеросклеротической бляшке обнаружены ЭТ *C. pneumoniae*, представленные полиморфными формами, среди которых выделяют грушевидные формы, плотные тельца, а также атипичные тельца и тельца «призраки». РТ — внутриклеточная метаболически активная форма возбудителя размерами 400–1000 нм, которая обеспечивает размножение хламидофил в клетке хозяина путем бинарного деления. Для *C. pneumoniae* в атеросклеротической бляшке описаны фибриллярные формы РТ с центральным плотным ядром. Они имеют свойство размножаться как спорообразованием, так и почкованием. В отличие от исключительно внутриклеточного цикла развития хламидофил при инфицировании клеток в первичных очагах или на культуре клеток, хламидофилы в атероматозной массе характеризуются также возможностью внеклеточного цикла развития. Для внеклеточного цикла развития хламидофил ретикулярные тельца не характерны. Микроорганизмы размножаются делением, почкованием с образованием ЭТ, типичных, атипичных и миниатюрных телец. Кроме того, микроорганизмы могут делиться как в окружении вакуолярной мембраны, так и вне её [4, 18].

Антигенные свойства хламидий определяются компонентами внутренней цитоплазматической мембраны, состоящей из липополисахаридов и интегрированных белковых компонентов наружной мембраны. Липополисахарид является родоспецифическим, общим для всех видов данных микроорганизмов антигеном, который в своем составе содержит: липид А, D-галактозамин, D-глюкозамин, фосфор, жирные длинноцепочечные кислоты, 3-деокси-D-манно-2-октолозоловую кислоту. Липополисахарид имеет две антигенные детерминанты, одна из которых специфична для рода хламидофил, а другая имеет перекрестную реакцию с некоторыми грам-отрицательными бактериями. Липополисахарид обеспечивает адгезию бактериальных клеток к клеткам хозяина, а также слипание бактерий между собой. Белковые компоненты клеточной стенки хламидофил обозначают как outer membrane proteins (OMP). В структуре OMP выделяют основной белок наружной мембраны

первого типа (major outer membrane protein — МОМР-1) с молекулярной массой 38–45 кДа, на который приходится 60% общего количества белка, а также МОМР-2 с молекулярной массой около 60 кДа. МОМР являются структурными белками, формирующими мембранные поры. Антитела к переменным участкам МОМР нейтрализуют хламидофилы, подавляя их способность ингибировать лизосомальную активность клетки хозяина и блокируя адгезивную способность хламидофильной клетки. Именно эпитопы указанных, а также других белковых компонентов клеточной стенки хламидофил дают представление о видоспецифических и типоспецифических различиях данных бактерий [19, 20].

Инфицирование *C. pneumoniae* происходит воздушно-капельным, контактно-бытовым путями. Факторами риска развития хламидофильной инфекции являются: наличие инфицированных лиц в семье; пребывание в организованных коллективах; нарушения функционирования иммунной системы; наличие других хронических инфекций, например, микоплазмоза; частый прием антибиотиков пенициллинового ряда [18, 21].

Хламидофильная инфекция, приводящая к развитию воспалительного процесса только в первичном очаге, характеризуется как локализованная. Клинически инфекция *C. pneumoniae* проявляется синдромами фарингита, назофарингита, бронхита, пневмонии [18]. В настоящее время в патогенезе инфекции выделяют следующие стадии: инфицирование слизистых оболочек; первичная топоческая инфекция с поражением клеток-мишеней; распространение процесса с множественными поражениями эпителиальных клеток и появлением клинических симптомов заболевания; развитие иммунопатологических реакций; резидуальная фаза патологического процесса с образованием морфологических и функциональных изменений в различных органах и системах [22].

Выраженность клинических проявлений хламидофильной инфекции зависит от количества инфицирующих агентов (массивности инфицирования), патогенности и вирулентности возбудителя, состояния иммунитета человека. Под влиянием указанных факторов возможна реализация четырех основных вариантов внутриклеточного цикла развития хламидофил.

Первый и наиболее редкий вариант проявляется деструкцией хламидофил в фаголизосомной системе клетки, что становится возможно при полной активации интерфероновой, цитокиновой систем клетки, ее гидролитического и антимикробного потенциалов. Второй вариант характеризуется реализацией репродуктивного цикла развития хламидофил. Данный вариант является наиболее частым. При третьем варианте взаимодействия

с клеткой-хозяином хламидофилы преобразуются в L-формы, среди которых выделяют внутриклеточное элементарное тельце, персистентное тельце, зрелое ретикулярное тельце и критическое тельце. Реализация третьего варианта встречается при неадекватно проведенной терапии, особенно после этиотропной терапии, проведенной без учета антибиотикорезистентности хламидофил. Характерными чертами L-форм хламидофил является их очень слабая способность к антигенному раздражению иммунокомпетентных клеток, способность передаваться дочерним клеткам при делении клетки-хозяина. Четвертый вариант — персистенция хламидофил, к которой приводят дефицит метаболитов и неадекватный иммунный ответ макроорганизма [18, 22].

Ниже будет приведен второй вариант внутриклеточного цикла развития хламидофил. ЭТ хламидофил при контакте с клеткой стимулируют процесс специфического фагоцитоза и внедряются в нее. Сами хламидофилы не имеют активного механизма проникновения в чувствительную клетку. Адсорбция ЭТ возбудителя к клеточной стенке происходит при содействии поверхностных термоллабильных эффекторов, которые структурно связаны с типоспецифическими хламидофильными антигенами и комплементарны клеточным рецепторам, содержащим сиаловую кислоту. После контакта с ЭТ сиаловая кислота клеточной стенки подвергается разрушению нейраминидазой, и ЭТ хламидофил проникают в клетку [19].

Присутствие инфекционных частиц в фагосоме не сопровождается расщеплением лизосом, так как ЭТ располагаются в вакуоле, окруженной дебриватной мембраной, защищающей их от воздействия лизоцимов. Кроме того, ЭТ окружены полимембранной оболочкой, отделяющей её от цитоплазмы клетки.

Одновременно в клетке может находиться множество ЭТ. На протяжении 4–8 ч после инфицирования клетки еще не наблюдается нарушений её функционального состояния. За это время ЭТ претерпевают ряд изменений. В них увеличивается количество рибосом и полирибосом, обнаруживается бактериальный нуклеотид, возрастает их величина, появляются признаки бинарного деления. Таким образом, ЭТ через ПТ реорганизуются в вегетативную форму — РТ. РТ вступают в клеточный цикл и делятся бинарно (всего от 8 до 12 циклов деления). С увеличением числа ПТ, РТ микроколонии хламидофил уплотняются и образуют характерную полулунную мантию вокруг ядра клетки-хозяина. Дочерние РТ преобразуются в ПТ и далее в ЭТ. В итоге из одного ЭТ может получиться от 200 до 1000 новых ЭТ. Цикл развития новых ЭТ из первичного ЭТ завершается в течение 48–72 ч. При наличии благоприятных условий для образования

новых ЭТ они заполняют цитоплазму клетки, что закономерно приводит к ее последующему разрушению. Как было указано выше, также возможна элиминация хламидофил, образование L-форм или персистенция возбудителя [18, 19].

Патологическое воздействие возбудителя реализуется при помощи токсической активности хламидофил, повреждения окружающих тканей гидролитическими лизосомальными ферментами из инфицированных клеток, токсического влияния продуктов аутолиза разрушенных клеток. В месте первичного очага инфекции образуется отек и гиперемия слизистых оболочек, нарушение целостности эпителиального слоя с частичной десквамацией эпителия, лимфоидная субэпителиальная и более глубокая инфильтрация, воспалительный экссудат [19].

В первичных очагах хламидофилы фагоцитируются периферическими моноцитами, что в дальнейшем приводит к гематогенному распространению инфекции по всему организму. Моноциты могут оседать в тканях и превращаться в тканевые макрофаги [19].

Немецкие ученые на примере экспериментальной животной модели описали характер диссеминации *C. pneumoniae* из первичных легочных очагов в кровяное русло. В результате интратрахеального инфицирования животных *C. pneumoniae* развивалась альвеолярная и интерстициальная пневмония с явлениями бронхоолита, которая разрешалась спонтанно в течение 2–4 недель.

При проведении гистологических исследований были обнаружены инфильтрированные гранулоцитами и моноцитами очаги воспаления в интерстиции, альвеолярном пространстве и просвете бронхиол. В течение 12 ч после инфицирования интрабронхиальный и альвеолярный инфильтрат был представлен гранулоцитами. От 24 ч до 3 суток с момента инфицирования в инфильтрате, наряду с гранулоцитами, было обнаружено небольшое количество моноцитов. По прошествии 3 суток после инфицирования гранулоциты в воспалительных инфильтратах были полностью замещены моноцитами. По прошествии 3 суток с момента инфицирования и на протяжении всего времени наблюдения у животных отмечалась периваскулярная и перибронхиальная лимфатическая гиперплазия. На протяжении всех 8 недель наблюдения за животными в селезенке и аорте не было обнаружено каких-либо патологических изменений.

Для детекции *C. pneumoniae* в тканях легких, селезенки, аорты, моноцитах крови применялись иммуногистохимический метод (ИГХ) и полимеразная цепная реакция (ПЦР).

ДНК *C. pneumoniae* обнаруживали в тканях легких у всех животных на протяжении 2 недель после инфицирования. Через 8 недель после ин-

фицирования ДНК *C. pneumoniae* была обнаружена только у двух из четырех животных. ДНК возбудителя была найдена в тканях легких также через 2 недели от последней из трех инокуляций, выполнявшихся на 1-е, 4-е и 7-е сутки.

В тканях легких были представлены четыре типа клеток, инфицированных *C. pneumoniae*: гранулоциты легких, в которых ДНК возбудителя не определялась через 3 дня после инфицирования, а также альвеолярные макрофаги, клетки альвеолярного и бронхиального эпителия, генетический материал возбудителя в которых был представлен на протяжении всего периода инфекционного процесса. В моноцитах крови ДНК хламидофил определялась с момента инфицирования и на протяжении двух недель. В тканях аорты хламидофильная ДНК определялась на протяжении двух недель с момента инфицирования. ИГХ-метод позволил обнаружить хламидофильный антиген только в одном случае по прошествии двух недель с момента инфицирования.

Авторы провели оценку инфицированных гранулоцитов кроликов *in vitro*. Количество инфицированных гранулоцитов увеличилось с 20% через 2 дня после инфицирования и достигло 90% по прошествии 4 дней с момента инфицирования. Этому способствовало в том числе блокирование апоптоза гранулоцитов возбудителем *C. pneumoniae*. В ходе культурального исследования при вторичном пассаже инфицированных гранулоцитов около 5% клеток клеточной среды оказались инфицированными *C. pneumoniae*, что доказывало сохраняющуюся жизнеспособность возбудителя.

Антимикробное действие гранулоцитов не реализуется при взаимодействии с *C. pneumoniae*. Гранулоциты не возвращаются в системный кровоток и имеют короткий период жизни, что способствует дальнейшему инфицированию эпителиальных клеток и макрофагов. В свою очередь, макрофаги проникают сквозь слизистые барьеры легких и попадают в системный кровоток, что приводит к диссеминации возбудителя и последующему образованию вторичных отдаленных очагов инфекции [23]. Сохранение патогенных свойств и жизнеспособности *C. pneumoniae*, а также *C. trachomatis* после инфицирования ими моноцитов является доказанным фактом [24, 25].

Роль жизнеспособных и инактивированных температурным воздействием *C. pneumoniae*, а также ЛПС клеточных стенок бактерий в развитии атеросклероза *in vivo* была на примере животной модели показана немецкими исследователями в 2005 г. Установлено, что однократные инъекции жизнеспособных, а также инактивированных *C. pneumoniae* не приводили к развитию атеросклероза. Только сочетание гиперхолестеринемии, длительного воздействия жизнеспособных

и инактивированных *S. pneumoniae*, а также ЛПС *E. coli* на стенки артерий приводило к ускорению процессов атерогенеза. Также исследователями была показана способность *S. pneumoniae* к персистенции в атеросклеротических бляшках и тканях артерий. [26].

Воспаление, индуцированное *S. pneumoniae*, и сердечно-сосудистая система

Влияние хламидофил на сердечно-сосудистую систему многогранно. Во-первых, хламидофильная инфекция способна поддерживать системный воспалительный ответ, факторы которого опосредованно влияют на сердечно-сосудистую систему и запускают каскад патологических механизмов. Во-вторых, хламидофилы приводят к атерогенезу при первичной колонизации эндотелиоцитов и гладкомышечных (ГМ) клеток артерий. В-третьих, переносимые моноцитами хламидофилы могут проникать в атерому и поддерживать местное воспаление в сосудистой стенке, вызывать дестабилизацию атеросклеротической бляшки и запускать патологические механизмы развития коронарных событий.

Иммунный ответ при персистирующей форме хламидофильной инфекции носит характер неспецифического, так как угнетается экспрессия генов *rpmA* и *rpmC*, кодирующих белки наружной мембраны возбудителя. В результате этого макрофаги не представляют Т-лимфоцитам хелперам основной антиген хламидофил МОМР, а иммунный ответ формируется на вариабельный липополисахарид (ЛПС), ОБНР и белок теплового шока с молекулярной массой 60 кДа (БТШ-60) [18, 27].

Что касается ЛПС грам-отрицательных микроорганизмов, то на примере ЛПС *E. coli* в исследовании *in vitro* показана его роль в усилении накопления макрофагами липидов и последующей их дифференцировке в пенистые клетки [28].

БТШ-60 — это мембранный белок стрессового клеточного ответа, он является доминантным белком большинства патогенных микроорганизмов. БТШ-60 присутствует как в ПТ, так и в ЭТ хламидофил, его синтез в большей степени активируется при непродуктивной латентной инфекции. У человека БТШ-60 входит в состав митохондрий и отвечает за синтез, транспорт белка и регуляцию АТФ-азной активности. Хламидофильному БТШ-60 свойственна 50% гомология в аминокислотной последовательности с БТШ-60 человека, что предрасполагает к развитию аутоиммунных реакций [18].

Выработка антител к хламидофильному БТШ-60 обуславливает развитие иммунопатологических реакций при персистирующей инфекции. Повышенный уровень IgA к *S. pneumoniae* в сочетании с повышенными уровнями IgA как к БТШ-60 бакте-

рии, так и к БТШ-60 человека являются факторами риска развития коронарных осложнений. Кроме того, хламидофильный БТШ-60 способен индуцировать окисление липопротеидов, а также активировать механизмы клеточного взаимодействия эндотелия, гладкомышечных клеток сосудов, макрофагов, что ускоряет течение атеросклеротического процесса. Риск развития коронарных событий значительно возрастает при сочетании указанных показателей с повышенным уровнем С-реактивного белка (СРБ). Синтез СРБ происходит в гепатоцитах под влиянием интерлейкина 6 (ИЛ-6), источником которого при инфицировании хламидофилами могут являться моноциты, макрофаги, эндотелиальные клетки, а также клетки соединительной ткани в очаге воспаления. Повышенный уровень СРБ — маркера системного воспаления при наличии очагов не только хламидофильной, но и различной по этиологии хронической инфекции дыхательных путей, мочеполовых органов, одонтогенных и инфекций других локализаций, является независимым фактором риска развития атеросклероза [29]. Повышенный уровень СРБ при хронических инфекциях связан также с проявлениями метаболического синдрома [30].

Кроме СРБ, к белкам острой фазы (БОФ) воспаления относятся также сывороточный аполипопротеин-а (апо(a)), амилоид А (САА), альфа-1 ингибитор протеаз, гаптоглобин и фибриноген.

БОФ отражают активность воспалительного и атеросклеротического процессов, что, в частности, проявляется при инфаркте миокарда и нестабильной стенокардии, когда значительно увеличиваются концентрации в крови СРБ, САА и апо(a). Исследования гуморальных факторов воспаления подтвердили, что непосредственной причиной тромбоза коронарных артерий является острое локальное воспаление [31].

Локальное воспаление в сосудистой стенке развивается в ответ на репликацию хламидофил в эндотелиальных, ГМ клетках, а также макрофагах, которые активируют CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты. *S. pneumoniae* запускает воспалительный ответ путем активации транскрипционного фактора nuclear factor κ B (NF- κ B). Результатами локального воспаления сосудистой стенки становятся: увеличение экспрессии молекул межклеточной адгезии; захват и миграция лейкоцитов в стенку сосуда; снижение активности эндотелиального оксида азота; усиление адгезии тромбоцитов и прокоагулянтной активности эндотелия; окисление липопротеидов; дифференцировка моноцитов в пенистые клетки с их последующей активацией; миграция и пролиферация гладкомышечных клеток, синтез соединительной ткани; некроз и апоптоз клеток [32, 33].

Было установлено, что *S. pneumoniae* индуцирует выработку интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8) и способствует снижению синтеза интерферона- γ (ИНФ- γ) в большей степени, чем другие грам-положительные бактерии [33, 34]. Индукция прокоагулянтной активности моноцитов интерлейкинами 6 и 8 предположительно может играть роль в связи воспаления и тромбоза у пациентов с ИБС. Хламидофилы способны стимулировать выработку молекул клеточной адгезии intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) и vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1), продукцию VCAM-1 также стимулирует и СРБ. Экспрессируемый Т-лимфоцитами very late antigen (VLA-4) — главный рецептор адгезии лимфоцитов, опосредует Т-клеточную адгезию в микроциркуляторном русле в ответ на взаимодействие лимфоцитов с VCAM-1 активированных хламидофилами эндотелиальных клеток. Данные механизмы межклеточного взаимодействия являются ключевыми в лимфоцитарной инфильтрации стенки сосудов при атеросклеротическом процессе [34].

Концентрация циркулирующих в плазме крови маркеров воспаления ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-13, ICAM-1 и VCAM-1 значимо выше, а ИЛ-10 и ИНФ- γ значимо ниже у пациентов с ИБС в сравнении со здоровыми людьми. В свою очередь, у пациентов с ИБС, имеющих высокие титры IgA к *S. pneumoniae*, значимо выше концентрация в плазме крови ИЛ-4, ИЛ-8 и ICAM-1, а концентрация ИЛ-10 и ИНФ- γ ниже, чем у пациентов с ИБС без признаков инфицирования *S. pneumoniae* [34].

Одним из факторов, способствующих разрастанию атеросклеротических бляшек, является утрата возможности регуляции сосудистого тонуса [35], что может быть обусловлено истощением запасов оксида азота, связанного с увеличением образования активных кислородных радикалов макрофагами [36]. В свою очередь, активные кислородные радикалы вступают в реакцию с оксидом азота с образованием высокотоксичного пероксида азота [37]. Таким образом, происходящая также в ответ на инфицирование хламидофилами реакция респираторного взрыва в макрофагах может приводить к ингибированию опосредованной оксидом азота релаксации сосудистой стенки.

Современные исследования доказывают, что хламидофильная инфекция может опосредованно стимулировать клеточное окисление липопротеинов при помощи ферментов миелопероксидазы и 15-липоксигеназы, вырабатываемых макрофагами в стенках артерий [32]. Находящиеся в сосудистой стенке липопротеины усиливают адгезию моноцитов к эндотелию и способствуют их дифференцированию в макрофаги [33].

Формирование фиброзной капсулы — это признак трансформации липидных полос в атероскле-

ротическую бляшку, являющийся приспособительным механизмом защиты гладкомышечными клетками от действия потока крови на поврежденный участок сосудистой стенки. Кроме того, фиброзная капсула призвана снижать поступление липопротеидов и клеток воспаления в стенку сосуда. Процесс формирования фиброзной капсулы сопровождается локальным увеличением количества гладкомышечных клеток и клеток соединительной ткани в атеросклеротической бляшке. В ходе миграции из меди и интимы сосуда гладкомышечные клетки перестают выполнять сократительную функцию и дифференцируются в клетки соединительной ткани — миофибробласты. Миграция, пролиферация, синтез соединительной ткани происходят в гладкомышечных клетках под действием тромбоцитарного фактора роста platelet-derived growth factor (PDGF), фактора роста фибробластов fibroblast growth factor (FGF) и трансформирующего фактора роста transforming growth factor (TGF- β), вырабатываемых в атеросклеротической бляшке активированными макрофагами [38]. Экспрессия указанных факторов может начаться в ответ на оксидативный стресс, а также при активации макрофагов *S. pneumoniae* [32].

Реализация механизмов некроза и апоптоза макрофагов и гладкомышечных клеток приводит к формированию некротического ядра атеросклеротической бляшки. Макрофаги и гладкомышечные клетки, расположенные по соседству с формирующимся ядром атеросклеротической бляшки, содержат фрагментированную ДНК. Многие из указанных клеток содержат также большое количество продуктов окисления липопротеинов. Фрагментация ДНК может быть следствием избыточного накопления продуктов окисления липопротеинов, результатом активации некроза или апоптоза в ответ на локальное действие ФНО- α , FAS лиганда или церамида сфинголипида. Инфицирование макрофагов *in vitro* *S. pneumoniae* в совокупности с повышенным накоплением в них окисленных липопротеинов приводит к гибели большего количества клеток, нежели только при инфицировании либо только в условиях гиперлипотеинемии [32].

Стадии атеросклероза согласно хламидофильной теории

Современные патолого-анатомические исследования детально характеризуют стадии атеросклеротического процесса с точки зрения хламидофильной теории.

Стадия первичного повреждения характеризуется инфицированием эндотелиоцитов и ГМ клеток *S. pneumoniae*. Инфицирование и активация эндотелиоцитов имеет разные последствия: индукция воспаления, деструкция самих эндоте-

лиоцитов и тканей микроокружения, начало реакций адаптивного иммунитета или ангиогенез [39]. Наиболее вероятным механизмом первичного инфицирования ГМ клеток *C. pneumoniae* является попадание возбудителя в стенку сосудов по *vasa vasorum* — сосудам сосудов. Инфицирование ГМ клеток приводит к повреждению цитоплазмы и миофибрилолизу, жировой инволюции, клеточной дефрагментации, разрыву клеток, распространению микроорганизмов во внеклеточном пространстве.

Стадия липидных пятен и полос характеризуется реализацией клеточного ответа на инфицирование *C. pneumoniae*. Повреждение эндотелия является следствием адгезии и инфильтрации интимы моноцитами крови, которые в стенке артерии превращаются в макрофаги. Макрофаги фагоцитируют фрагменты инфицированных и разрушенных ГМ клеток, а также липиды, микроколонии хламидофил и гликоген. Кроме того, макрофаги могут сливаться и образовывать гигантские многоядерные фагоцитирующие клетки. Своему названию «пенистые клетки» макрофаги в стенке артерии обязаны характерным по виду включениям, содержащим плеоморфные хламидофилы.

Атероматозная масса, которая, наряду с холестериновыми включениями, образует некротическое ядро атеросклеротической бляшки в фиброзно-некротическую стадию атеросклероза, формируется вследствие разрушения содержащих колонии хламидофил ГМ клеток, макрофагов, размножения бактерий во внеклеточном пространстве. Холестериновые включения атероматозной массы образуются из элементов погибших бактерий и участков клеточных стенок. Исходом хронического воспаления является формирование фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки. Кроме наличия фиброзной капсулы и атероматозной массы, поздняя стадия атеросклероза характеризуется процессом ангиогенеза в атеросклеротической бляшке, который необходим для поступления моноцитов крови в глубь сосудистой стенки к очагам хламидофильной инфекции. Разрыв новообразованных сосудов, контакт элементов атероматозной массы с кровью служит поводом к началу тромбоза. Как тромбоз, так и рост атеросклеротической бляшки и обтурация ею просвета артерии служат причинами возникновения ассоциированных с атеросклерозом заболеваний и их осложнений [4]. Новые данные о патогенезе атеросклероза представлены в таблице.

Таблица

Новые представления о патогенезе атеросклероза (Shor A., 2007)

Новые представления о патогенезе атеросклероза		
Стадия	Прежние данные	Новые данные
Первичное повреждение	Первичное накопление липопротеидов в интимае	Ультраструктурно связано с инфицированием эндотелия, гладкомышечных клеток <i>C. pneumoniae</i> , повреждением цитоплазмы и миофибрилолизом, жировой инволюцией, последующей клеточной дефрагментацией, разрывом клеток, распространением микроорганизмов во внеклеточном пространстве
Липидные полосы или пятна	Представляют собой изменения эндотелия, связанные с адгезией и инфильтрацией моноцитами, которые становятся макрофагами и фагоцитируют жир с формированием пенистых клеток	Клеточный ответ на повреждение и инфицирование. Макрофаги фагоцитируют и содержат не только липиды, но также фрагменты ГМК, хламидофилы, гликоген. Макрофаги сливаются и образуют гигантские многоядерные фагоцитирующие клетки
Фиброзно-некротическая стадия	Фибролипидная бляшка. Некротическое ядро состоит из липидных включений в виде мелких мембранозных липидных структур, полостей, плотных телец и неизвестных включений. Липофусциновые включения образуются из липидов. Холестериновые включения образуются в процессе накопления холестерина	Некротическое ядро атеросклеротической бляшки состоит из микроколоний ЭТ хламидофил и частей погибших клеток. Атероматозная масса формируется вследствие размножения бактерий, некроза пенистых клеток и последующей дисперсией бактерий. Липофусцин образуется из внутриклеточных вакуолей, в некоторых из них отмечено почкование ЭТ хламидофил. Холестериновые включения образуются из погибших бактерий и участков клеточных стенок
Поздняя стадия	Фиброз. Проплиферация ГМК и формирование коллагена. Апоптоз ГМК. Геморрагические явления. Растрескивание, разрыв, изъязвление вторичны по отношению к формированию тромба	Фиброз формируется как исход хронического воспаления. Фибробластическая реакция является завершающей стадией воспаления. Апоптоз клеток развивается после формирования коллагеновых включений. Ангиогенез как часть исхода воспалительного процесса (неоваскуляризация и формирование грануляций). Геморрагии обусловлены разрывом вновь сформированных сосудов

Заключение

Инфекционный процесс, обусловленный *C. Pneumoniae*, характеризуется преимущественно мало- или бессимптомными проявлениями, отсутствием спонтанного выздоровления и хроническим течением. Из четырех возможных вариантов внутриклеточного цикла развития хламидофил наиболее частыми являются реализация полного внутриклеточного цикла развития и персистенция хламидофил. Отсутствие спонтанного выздоровления от хламидофильной инфекции связано с иммунными особенностями возбудителя, которые приводят к неспецифическому воспалительному ответу в первичных и вторичных очагах инфекции. Хламидофильная инфекция характеризуется диссеминацией возбудителя из первичных очагов с помощью циркулирующих моноцитов. Фагоцитированные моноцитами хламидофилы сохраняют свою жизнеспособность и патогенность, возможность реализации полного внутриклеточного цикла развития. Хламидофилы, локализованные вследствие гематогенной диссеминации в эндотелиоцитах, гладкомышечных клетках сосудистой стенки, индуцируют экспрессию молекул межклеточной адгезии, захват и миграцию лейкоцитов в стенку сосудов, снижение активности эндотелиального оксида азота; усиливают адгезию тромбоцитов и прокоагулянтную активность эндотелия, окисление липопротеидов; способствуют дифференцировке макрофагов в пенистые клетки, миграции и пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, синтезу соединительной ткани; вызывают некроз и апоптоз клеток. Атеросклероз в условиях гиперхолестеринемии развивается быстрее при наличии в организме не только жизнеспособных, но и инактивированных хламидофил, а также ЛПС клеточной стенки грам-отрицательных бактерий. В случае инактивации патогенных микроорганизмов иммунной системой моноциты и макрофаги могут длительное время поддерживать воспалительный ответ на чужеродные структурные компоненты патогенов, что в сочетании с гиперхолестеринемией ускоряет течение атеросклеротического процесса. Кроме того, опубликованы результаты патолого-анатомических исследований, характеризующие стадии атеросклеротического процесса с точки зрения хламидофильной теории. В целом, современные литературные данные подтверждают единство инфекционно-воспалительного процесса, вызываемого широко распространенным возбудителем — *C. Pneumoniae*, и атеросклероза. Указанные факты делают обоснованной дальнейшую разработку алгоритмов диагностики и лечения хламидофильной инфекции у больных атеросклерозом с его различными клиническими проявлениями.

Литература

- 1 World Health Organization. — <http://www.ktl.fi/monica/index.html>.
2. Futterman, L.G. Fifty percent of patients with coronary artery disease do not have any of the conventional risk factors / L.G. Futterman, L. Lemberg // *Am. J. Crit. Care* — 1998. — V. 7, № 3. — P. 240–244.
3. Никитин, Ю.П. Новые фундаментальные и прикладные основы атерогенеза / Ю.П. Никитин // *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. — 2006. — № 2. — С. 6–14.
4. Shor, A. Chlamydia atherosclerosis lesion: discovery, diagnosis and treatment / A. Shor. — London.: Springer — Verlag London Limited, 2007. — 170 p.
5. Saikku, P. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction / P. Saikku [et. al.] // *Lancet*. — 1988. — V. 2, № 8618. — P. 983–986.
6. Volanen, I. Increased aortic intima-media thickness in 11-year-old healthy children with persistent Chlamydia pneumoniae seropositivity / I. Volanen [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2006. — V. 26, № 3. — P. 649–655.
7. Miyashita, M. Association of chronic infection of Chlamydia pneumoniae and coronary heart disease in Japan / M. Miyashita [et al.] // *Internal Medicine*. — 1998. — V. 37, № 11. — P. 913–916.
8. Позняк, А.Л. Современные аспекты диагностики мочевого хламидийной инфекции / А.Л. Позняк [и др.] // *Клинико-лабораторный консилиум*. — 2009. — Т. 28, № 3. — С. 57–72.
9. Карпунина, Н.С. Chlamydia pneumoniae и атерогенез: свидетель или главный подозреваемый? (обзор) / Н.С. Карпунина, А.В. Туев // *Медицинский альманах*. — 2010. — Т.13, № 4. — С. 252–257.
10. Mitusch, R. Asymptomatic carotid atherosclerosis is associated with circulating chlamydia pneumoniae DNA in younger normotensive subjects in a general population survey / R. Mitusch [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2005. — V. 25, № 2. — P. 386–391.
11. Watson, C. Role of Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis / C. Watson, N.J. Alp // *Clinical Science*. — 2008. — V. 114. — P. 509–531.
12. Герасимова, Н.М. Новая классификация хламидий и ее значение для практики / Н.М. Герасимова, Н.В. Кунгуров, Ю.А. Бажин // *ИППП*. — 2001. — № 1. — С. 14–18.
13. Аверьянов, А.В. Хламидийная и микоплазменная инфекция в патологии нижних дыхательных путей / А.В. Аверьянов // *Лечебное дело*. — 2009. — № 4. — С. 52–62.
14. Hammerschlag, M.R. Current knowledge of Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis / M.R. Hammerschlag // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* — 1998. — V. 17, № 5. — P. 305–308.
15. Grayston, J.T. Chlamydia pneumoniae sp. nov. for Chlamydiae sp. Strein TWAR / J.T. Grayston [et al.] // *Int. J. Syst. Bacteriol.* — 1989. — V. 39. — P. 88–90.
16. Гранитов, В.М. Хламидиозы / В.М. Гранитов — М.: Медицинская книга; Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2000. — 197 с.
17. Stephens, R.S. Chlamydia. Intracellular Biology, Pathogenesis, and Immunity / R.S. Stephens. — Washington: ASM Press, 1999 — P. 143–146.
18. Лобзин, Ю.В. Хламидийные инфекции. Диагностика, клиника, лечение, реабилитация : руководство для врачей / Ю.В. Лобзин, А.Л. Позняк, С.Н. Сидорчук. — СПб: Фолиант, 2010. — 488 с.

19. Молочков, В.А. Урогенитальный хламидиоз / В.А. Молочков — М.: Бином, 2006. — 208 с.
20. Яковлев, В.М. Сосудистый эндотелий и хламидийная инфекция / В.М. Яковлев, А.И. Новиков — М.: Медицина, 2000. — 172 с.
21. Савенкова М.С. Респираторный хламидиоз у детей / М.С. Савенкова, М.П. Савенков // Лечебное дело. — 2007. — № 1. — С. 19–29.
22. Батыршина, С.В. Урогенитальный хламидиоз: проблемы, возможности и перспективы диагностики, терапии и профилактики / С.В. Батыршина // Практическая медицина. — 2010. — № 2. — С. 73–80.
23. Gieffers, J. Phagocytes transmit Chlamydia pneumoniae from the lungs to the vasculature / J. Gieffers [et al.] // Eur. Respir. J. — 2004. — V. 23. — P. 506–510.
24. Airenne, S. Chlamydia pneumoniae infection in human monocytes / S. Airenne [et al.] // Infection and immunity. — 1999. — V. 67, № 3. — P. 1445–1449.
25. Yong, E.C. Differential antimicrobial activity of human mononuclear phagocytes against the human biovars of Chlamydia trachomatis / E.C. Yong, E.Y. Chi, C.C. Kuo // J. Immunol. — 1987. — V. 139. — P. 1297–1302.
26. Engelmann M.G. Chronic perivascular inoculation with Chlamydia pneumoniae results in plaque formation in vivo / M.G. Engelmann [et al.] // Laboratory investigation. — 2006. — V. 86. — P. 467–476.
27. Пашко, Ю.П. Особенности распространения в организме Chlamydia trachomatis при хроническом течении урогенитального хламидиоза и детекция возбудителя в сыворотке крови / Ю.П. Пашко [и др.] // Фундаментальные исследования. — 2010. — № 7. — С. 50–57.
28. Funk, J.L. Lipopolysaccharide stimulation of RAW 264.7 macrophages induces lipid accumulation and foam cell formation / J.L. Funk [et al.] // Atherosclerosis. — 1993. — V. 98. — P. 67–82.
29. Huittinen, T. Synergistic effect of persistent Chlamydia pneumoniae infection, autoimmunity, and inflammation on coronary risk / T. Huittinen [et al.] // Circulation. — 2003. — V. 107, № 20. — P. 2566–2570.
30. Nabipour, I. The association of metabolic syndrome and Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, cytomegalovirus, and herpes simplex virus type 1: the Persian gulf healthy heart study / I. Nabipour [et al.] // Cardiovascular diabetology. — 2006. — V. 5, № 25. — <http://www.cardiab.com/content/5/1/25>.
31. Титов В.Н. Общность атеросклероза и воспаления: специфичность атеросклероза как воспалительного процесса / В.Н. Титов // Российский кардиологический журнал. — 1999. — № 5. — <http://medi.ru/doc/6690510.htm>.
32. Rosenfeld, M.E. Chlamydia, inflammation and atherogenesis / M.E. Rosenfeld [et al.] // The journal of infectious diseases. — 2000. — V. 181. — P. 492–497.
33. Fazio, G. Atherosclerosis, inflammation and Chlamydia pneumoniae / G. Fazio [et al.] // World journal of cardiology. — 2009. — V. 1. — P. 31–40.
34. Jha, H.M. Association of plasma circulatory markers, Chlamydia pneumoniae, and high sensitive C-reactive protein in coronary artery disease patients of India / H.M. Jha [et al.] // Mediators Inflamm. — <http://www.hindawi.com/journals/mi/2009/561532/>
35. Mombouli, J.V. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy / J.V. Mombouli, P.M. Vanhoutte // J. Mol. Cell. Cardiol. — 1999. — V. 31. — P. 61–74.
36. Maxwell, A.J. The role of nitric oxide in atherosclerosis / A.J. Maxwell, J.P. Cooke // Coron. Artery Dis. — 1999. — V. 10. — P. 277–286.
37. Munzel, T. Role for NADPH/NADH oxidase in the modulation of vascular tone / T. Munzel [et al.] // Ann. NY. Acad. Sci. — 1999. — V. 874. — P. 386–400.
38. Ross, R. Atherosclerosis — an inflammatory disease / R. Ross // N. Engl. J. Med. — 1999. — V. 340. — P. 115–126.
39. Фрейдин И.С. Эндотелиальная клетка как мишень действия бактерий и их компонентов / И.С. Фрейдин, Э.А. Старикова // Медицинский академический журнал. — 2010. — Т. 10, № 4. — С. 95–107.

Авторский коллектив:

Позняк Алексей Леонидович — профессор кафедры инфекционных болезней Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, заведующий отделением хронических урогенитальных инфекций амбулаторно-поликлинического центра Научно-исследовательского института детских инфекций ФМБА России, д.м.н.; тел.: 8-921-937-93-89

Сидорчук Сергей Николаевич — старший преподаватель кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний) Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, к.м.н.; тел. 8-901-300-23-62, e-mail: sergei_sidorchuk@mail.ru

Тарасов Антон Викторович — врач-терапевт терапевтического отделения поликлиники, аспирант Всероссийского центра экстремальной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России; тел.: 8-950-003-81-56, e-mail: tarasovmed@mail.ru

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ ДЕТСКОГО И ПОДРОСТКОВОГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК: ЭТИОЛОГИЯ, СТРУКТУРА, ФАКТОРЫ РИСКА

М.Ю. Аверьянова¹, В.Н. Вавилов¹, С.Н. Бондаренко¹, О.С. Успенская¹, Н.В. Станчева¹, Е.В. Семенова¹, А.Г. Волкова¹, Б.И. Смирнов², И.Б. Баранова³, Л.С. Зубаровская¹, Н.Н. Климко⁴, Б.В. Афанасьев¹

¹Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет им. В.И. Ульянова, Санкт-Петербург

³Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

⁴Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Bacterial infections in pediatric and adolescent in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients: etiology, structure, risk factors

M.Yu. Averyanova¹, V.N. Vavilov¹, S.N. Bondarenko¹, O.S. Uspenskaya¹, N.V. Stancheva¹, E.V. Semenova¹, A.G. Volkova¹, B.I. Smirnov², I.B. Baranova³, L.S. Zubarovskaya¹, N.N. Klimko⁴, B.V. Afanasyev¹

¹Institute of Children Hematology and Transplantation named after R.M. Gorbacheva of Saint-Petersburg State Medical University named after academic I.P. Pavlov, Saint-Petersburg

²Saint-Petersburg State Electrotechnical University named after V.I. Uliyanov, Saint-Petersburg

³Saint-Petersburg State Medical University named after academic I.P. Pavlov, Saint-Petersburg

⁴North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg

Резюме. Обследовано 155 пациентов детского и подросткового возраста со злокачественными заболеваниями системы крови после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). У 80 % больных на разных этапах после алло-ТГСК развились бактериальные осложнения различной степени тяжести. Основными факторами риска бактериальных инфекций были диагноз острого лейкоза (73 %), развитие острой «реакции трансплантат против хозяина» (61 %), тяжелые инфекционные осложнения в анамнезе до трансплантации (30 %), реактивация цитомегаловирусной инфекции (51 %). Основные возбудители: *Kl. pneumoniae* (15 %), *Escherichia coli* (8 %), *Enterobacter sp.* (7 %), *Pseudomonas sp.* (6,5 %), *Enterococcus sp.* (16,5 %), *S. epidermidis* (13,5 %). Наиболее часто возникает поражение мочевыводящих путей (30,6 %), легких (22,5 %) и бактериемия (38,7 %). Отмечен рост резистентности к ципрофлоксацину среди энтеробактерий, аэробной и грам-положительной кокковой флоры. Общая выживаемость больных с развившимися бактериальными осложнениями составила 36,3 % ($p < 0,001$). Статистически значимо ухудшает показатели общей выживаемости больных с бактериальными инфекциями количество инфекционных эпизодов ($p < 0,001$) и их тяжесть ($p < 0,001$).

Ключевые слова: трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, бактериальные инфекции, факторы риска.

Abstract. 155 children and adolescents who had been diagnosed oncohematological diseases and had undergone allogeneic hemapoetic stem cell transplantation were examined. In post-transplant period 80 % of patients developed different bacterial complications. Main risk factors of bacterial infections were acute leukemia (73 %), acute «graft versus host disease» (61 %), severe infectious complications before HSCT (30 %), cytomegaloviral reactivation (51 %). Main causative agents were *Kl. pneumoniae* (15 %), *Escherichia coli* (8 %), *Enterobacter sp.* (7 %), *Pseudomonas sp.* (6,5 %), *Enterococcus sp.* (16,5 %), *S.epidermidis* (13,5 %). Most frequent involved sites are urinary tract (30,6 %), lungs (22,5 %) and bacteriemia (38,7 %). Rise in ciprofloxacin resistans among Entorobactri, aerobic and Gram-positive cocci. General survival rate of patients with bacterial complications was 36,3 % ($p < 0,001$). Number of infectious episodes and their severity were statistically significant (both $p < 0,001$) deteriorating factor for general survival rate.

Key words: allogeneic hemapoetic stem cell transplantation, bacterial infections, risk factors.

Введение

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток является современным и эффективным методом лечения целого ряда гематологических, онкологических, аутоиммунных и наследственных заболеваний [1–4]. Одной из серьезных проблем, а также причиной неудач трансплантации у детей и взрослых является развитие тяжелых инфекционных осложнений [5–7]. Реципиенты трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) имеют высокий риск развития бактериальных, грибковых, вирусных инфекций за счет длительной гранулоцитопении, дефекта системы фагоцитоза, нарушения клеточного и гуморального иммунитета, функциональной асплениии. Развитие иммунных осложнений, таких как острая или хроническая реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ), длительное применение иммуносупрессивных препаратов, использование системных глюкокортикостероидов в периоде после алло-ТГСК значительно повышают риск развития инфекций, в том числе и вызываемых условно-патогенными микроорганизмами [8–10].

Цель исследования — изучить частоту, характер, локализацию бактериальных осложнений у пациентов в течение первого года после алло-ТГСК, а также спектр микроорганизмов, вызывающих эти осложнения.

Материалы и методы

В исследование включены 155 пациентов детского (до 14 лет) и подросткового (14–21 лет) возраста со злокачественными заболеваниями системы крови и наследственными заболеваниями, перенесших алло-ТГСК в период с ноября 2008 г. по июнь 2011 г. в клинике Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачёвой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. Период наблюдения пациентов после алло-ТГСК составил 1 год (365 дней). Демографические характеристики, распределение пациентов в зависимости от диагноза и стадии заболевания представлены в таблице 1.

Тяжелые БИ в анамнезе до алло-ТГСК имели 30% (46) пациентов, у 47% (73) были выявлены хронические очаги инфекции. Неинфекционные хронические заболевания наблюдались среди 41% (63) пациентов. Характеристики проведения алло-ТГСК представлены в таблице 2.

Таблица 1

Характеристика пациентов: возраст, пол, диагноз и стадии заболевания на момент алло-ТГСК

Параметр	Значение, год или % (абс.)
Длительность болезни, мес. (медиана)	3 года (1 мес. — 17 лет)
Возраст, лет (медиана)	12 лет (4 мес. — 21 год)
<i>Пол</i>	
Мужской	67% (104)
Женский	33% (51)
<i>Диагноз</i>	
Острый лейкоз	73% (113)
Острый миелоидный лейкоз	33% (51)
Острый лимфобластный лейкоз	40% (62)
Хронический миелолейкоз	6% (10)
Злокачественные лимфомы	3% (4)
Миелодиспластический синдром	7% (11)
Апластическая анемия, тяжелая степень	4% (6)
Другие незлокачественные заболевания	7% (11)
<i>Стадия на момент ТГСК</i>	
Ремиссия	37% (57)
Рецидив	47% (73)

Таблица 2

Характеристики проведения алло-ТГСК

Параметры сравнения	Значение, % (абс.)
<i>Источник аллогенных гемопоэтических стволовых клеток:</i>	
Костный мозг	42% (65)
Гемопоэтические стволовые клетки периферической крови	39% (61)
Комбинация костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток периферической крови	19% (29)
<i>Тип донора, HLA-совместимость:</i>	
Неродственный, совместимый	45% (70)
Неродственный, частично совместимый	8% (12)
Родственный, совместимый	17% (27)
Родственный, частично совместимый	30% (46)
<i>Режим кондиционирования (РК):</i>	
Миелоаблативный	39% (61)
Немиелоаблативный	61% (94)
Клеточность трансплантата, CD34 ⁺ клеток 10 ⁶ /кг (медиана)	6,0 (0,3-45,6)

Окончание таблицы 2

Параметры сравнения	Значение, % (абс.)
Иммуносупрессивная терапия в составе режима кондиционирования:	
Флударабин	55% (85)
Антилимфоцитарный иммуноглобулин (АТГ)	68% (106)
Алемтузумаб/ритуксимаб	17% (27)
Иммуносупрессия в периоде после алло-ТГСК:	
Глюкокортикостероиды (ГКС)	54% (84)
Моноклональные антитела (МАТ: ритуксимаб, инфликсимаб, алемтузумаб, даклизумаб, этанарцепт)	36% (56)
Экстракорпоральный фотоферез	8% (12)
Назначение гранулоцитарного колоние-стимулирующего фактора (Г-КСФ) для стимуляции гемопоэза	57% (88)
Использование внутривенных иммуноглобулинов в периоде после алло-ТГСК	78% (121)

Отбор пациентов для проведения алло-ТГСК, выбор режима кондиционирования, профилактики острой РТПХ осуществляли в соответствии с рекомендациями Европейской рабочей группы по трансплантации костного мозга (ЕВМТ). Всем пациентам проводилась медикаментозная антибактериальная профилактика фторхинолонами (ципрофлоксацин 0,1 г/кг 2 раза в день) с момента начала режима кондиционирования и на всем протяжении нейтропении до момента восстановления числа нейтрофильных гранулоцитов до $0,5 \times 10^9/\text{л}$ абсолютного числа лейкоцитов $1,0 \times 10^9/\text{л}$, либо до начала системной антибактериальной терапии. Профилактика инфекционных осложнений проводилась в соответствии с рекомендациями по профилактике инфекционных осложнений у реципиентов алло-ТГСК Центра по контролю заболеваемости (CDC), Американского общества трансплантации крови и костного мозга (ASBMT), Американского общества инфекционных болезней (IDSA), Центра международного исследования трансплантации крови и костного мозга (CIBMTR). Для диагностики сепсиса использовали критерии Европейского общества интенсивной терапии (ESICM, 2001), Интернациональной организации Сепсис-Форум (ISF, 2003).

Материалом для выявления возбудителей БИ дыхательных путей была бронхоальвеолярная лаважная жидкость (БАЛ). Для диагностики инфекций мочевыводящих путей исследовали пробы мочи средней порции или полученной с помощью моче-

вого катетера. Для диагностики БИ ЛОР-органов материалом для исследования были отделяемое из уха, содержимое околоносовых пазух. Для определения возбудителей бактериемии брали парные пробы крови из центрального венозного катетера и периферической вены. Выделение чистых культур микроорганизмов и их идентификацию, а также определение чувствительности к антибиотикам осуществляли на базе бактериологической лаборатории СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Посев материала проводился по общепринятой международной схеме [11]. Идентификацию выделенных микроорганизмов осуществляли с использованием автоматического анализатора «VITEK-2» фирмы bioMerieux (Франция). Исследование чувствительности проводили диско-диффузным методом в соответствии с рекомендациями NCCLS [12] на агаре Мюллера — Хинтона и методом серийных разведений на анализаторе «VITEK-2». Интерпретацию данных о чувствительности выделенных штаммов к антибиотикам, полученных диско-диффузным методом, осуществляли в соответствии с требованиями NCCLS [12]. Интерпретация результатов, полученных методом серийных разведений, проводилась автоматически экспертной программой анализатора «VITEK-2».

Для анализа полученных данных использовали методы параметрической и непараметрической статистики. Анализ выживаемости проводили по методу Каплан — Майер, используя лог-ранк-тест для оценки достоверности различий. При оценке результатов тестирования статистически достоверными считали различия при значениях $p < 0,05$. Многофакторный анализ выполняли с помощью метода пошаговой логистической регрессии. Обработку результатов проводили с использованием стандартного пакета статистических программ Excel® 10.0, Microsoft, Inc., 2002 и SPSS, version 15, StatSoft, Inc.

Результаты и обсуждение

В результате исследования от 155 пациентов получено 873 положительных высева патогенной или обильный рост условно-патогенной флоры. У 124 (80%) пациентов на разных этапах после алло-ТГСК идентифицировано 287 состояний, которые были классифицированы как бактериальные инфекционные осложнения различной этиологии и локализации, из них доказанных микробиологически 253 (88%) и имеющих только клинические проявления — 34 (12%) эпизода. Спектр возбудителей БИ у пациентов после алло-ТГСК многообразен. В этиологической структуре Гр(-) флору наблюдали несколько чаще по сравнению с Гр(+) (55% против 45% соответственно). Основные выделенные бактериальные патогены представлены в таблице 3. Классификация бактерий представлена в соответствии с руководством по систематической бактериологии Д. Берджи [13].

Таблица 3

Основной спектр бактерий (n=873), выявляемых у больных после алло-ТГСК

Возбудители	Абс. (%)	Возбудители	Абс. (%)
Грам-положительные возбудители, n = 394 (45%)		Грам-отрицательные возбудители, n = 479 (55%)	
Грам-положительные кокки	325 (37%)	Факультативно анаэробные грам-отрицательные палочки	290 (33%)
Семейство Staphylococcaceae	151 (16,5%)	Семейство Enterobacteriaceae	290 (33%)
Staphylococcus epidermidis	119 (13,5%)	Klebsiella pneumoniae	132 (15%)
Staphylococcus saprophyticus	14 (2%)	Klebsiella oxytoca	9 (1%)
Staphylococcus aureus	18 (2%)	Enterobacter cloacae	64 (7%)
		Escherichia coli	72 (8%)
Семейство Streptococcaceae	56 (6,5%)	Citrobacter freundii	13 (2%)
Streptococcus viridans spp.	56 (6,5%)	Грам-отрицательные аэробные и микроаэрофильные палочки	104 (12%)
Семейство Enterococcaceae	157 (16,5%)	Семейство Moraxellaceae	48 (5,5%)
Enterococcus faecalis	101 (11,5%)	Acinetobacter baumannii	48 (5,5%)
Enterococcus faecium	46 (5%)	Семейство Pseudomonadaceae	56 (6,5%)
		Pseudomonas aeruginosa	56 (6,5%)
Другие грам-положительные	40 (4,5%)	Другие грам-отрицательные	85 (10%)

Встречаемость возбудителей (табл. 4), ранее считавшихся редкими или малопатогенными, составила 5–10%. Однако вызываемые ими инфекции характеризуются высокой летальностью, что объясняется трудностями идентификации данных микроорганизмов, наличием ограниченного числа антибиотиков, эффективных в отношении этих бактерий [14, 15].

При анализе спектра выявленных микроорганизмов за время наблюдения отмечалась тенденция к возрастанию общей доли Гр(+) флоры (42% в 2008–2009 гг. против 47% в 2010–2011 гг.), Enterococcus spp. (14% в 2008–2009 гг. против 19,5% в 2010–2011 гг.), резистентных к ванкомицину энтерококков (4% в 2008–2009 гг. против 9,5% в 2010–2011 гг.), а также других Гр(-) микроорганизмов (7% в 2008–2009 гг. против 12% в 2010–2011 гг.) с достоверностью различий $p < 0,001$. Резистентный к оксацилину Staphylococcus aureus был выявлен в 17% случаев, роста числа инфекционных осложнений, им обусловленных, не отмечалось.

Локализация и этиологическая структура БИ у пациентов после алло-ТГСК представлена в таблице 5. По результатам исследования выявлено преобладание инфекций, вызванных Гр(-) флорой. В структуре локализации БИ преобладали бактериемии (39%), инфекции мочевыводящих путей (31%), поражение дыхательных путей, легких составило 22,5%. Наиболее значимыми возбудителями являлись Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Enterobacter sp., Pseudomonas sp., Enterococcus sp., Staphylococcus epidermidis.

Таблица 4

Другие грам-положительные и грам-отрицательные бактерии, выявляемые у больных после алло-ТГСК

Другие грам-положительные возбудители, n = 40 (4,5%)	Другие грам-отрицательные возбудители, n = 85 (10%)
Грам-положительные кокки	Грам-отрицательные аэробные и микроаэрофильные палочки
Leuconostoc spp.	Sphingomonas paucimobilis
Micrococcus luteus	Pseudomonas delftia acidovorans
Kocuria rosea	Pseudomonas fluorescens
Kocuria varians	Pseudomonas paucimobilis
Rothia mucilaginosa	Pseudomonas putida
Granulicatella adiacens	Pseudomonas stutzeri
	Burkholderia cepacia
	Stenotrophomonas maltophilia
Спорообразующие грам- положительные палочки	Achromobacter xylosoxidans
Bacillus spp.	Comamonas testosteroni
	Ralstonia mannitolityca
	Chryseobacterium indologenes
Спорообразующие грам- положительные палочки неправильной формы	Факультативно анаэробные грам-отрицательные палочки
Corynebacterium jeikeium	Proteus mirabilis
Corynebacterium urealyticum	Proteus vulgaris
Corynebacterium amycolatum	Serratia marcescens
	Pantoea spp.
	Raoultella ornithinolytica

Таблица 5

Этиология и локализация микробиологически доказанных БИ у больных после алло-ТГСК (случаи)

Возбудители	Респираторные инфекции, 56 (22,5%)	Бактериемии, 96 (38,7%)	Инфекции мочевыводящих путей, 76 (30,6%)	Инфекции ЛОР-органов, 20 (8,2%)
<i>Инфекции, вызванные грам-отрицательной флорой</i>	34 (60%)	49 (50,5%)	58 (76%)	13 (65%)
<i>Escherichia coli</i>	3 (5%)	3 (3%)	15 (20%)	4 (20%)
<i>Kl. pneumoniae</i>	8 (14%)	11 (11,5%)	20 (26%)	5 (40%)
<i>Enterobacter sp.</i>	3 (5%)	8 (8,25%)	6 (8%)	1 (5%)
<i>Pseudomonas sp.</i>	9 (19%)	11 (11,5%)	8 (10%)	3 (15%)
<i>Citrobacter sp.</i>	3 (5%)	1 (1%)	1 (1,5%)	—
<i>Acinetobacter sp.</i>	3 (5%)	4 (4%)	3 (4,5%)	—
<i>St. maltophilia</i>	3 (5%)	3 (3%)	1 (1,5%)	—
Другие	2 (3,5%)	8 (8,25%)	4 (5%)	—
<i>Инфекции, вызванные грам-положительной флорой</i>	22 (40%)	47 (49,5%)	18 (24%)	7 (35%)
<i>Enterococcus sp.</i>	7 (12,5%)	4 (4%)	15 (20%)	2 (10%)
<i>S. aureus</i>	4 (7%)	1 (1%)	—	1 (5%)
<i>S. epidermidis</i>	5 (9%)	24 (25%)	2 (3%)	1 (5%)
<i>S. saprophyticus</i>	—	3 (3%)	1 (1,5%)	—
<i>Leuconostoc sp.</i>	—	3 (3%)	—	2 (10%)
Другие	6 (10%)	12 (12,5%)	—	1 (5%)

Исследование показало, что структура бактериальных осложнений имеет достоверные различия ($p=0,004$) в зависимости от периода после алло-ТГСК. Обнаружено различие в профилях распределения осложнений между периодами до приживления трансплантата и поздним периодом после алло-ТГСК. Частота развития инфекций мочевыводящих путей в позднем периоде после алло-ТГСК имеет достоверно более низкое значение (13%), чем в периоде до приживления (28%) и раннем периоде после алло-ТГСК (20%). Частота развития инфекций ЛОР-органов и мягких тканей составила не более 14% и 11% соответственно во всех периодах после алло-ТГСК. Бактериемия, независимо от периода наблюдения, имеет большой процент встречаемости (до 38%). Выявлено, что в периоде до приживления трансплантата инфекции, вызванные Гр(+) флорой, встречаются чаще (45%), чем в раннем периоде (28%) ($p=0,037$). В позднем периоде обнаружена более низкая встречаемость для всех возбудителей, в большей степени для *Escherichia coli*, *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Citrobacter* ($p=0,001$) (рис.1).

При оценке спектра резистентности выделенных возбудителей к ципрофлоксацину, используемому в качестве селективной деконтаминации кишечника у реципиентов алло-ТГСК, было показано достоверное ($p<0,001$) различие для двух

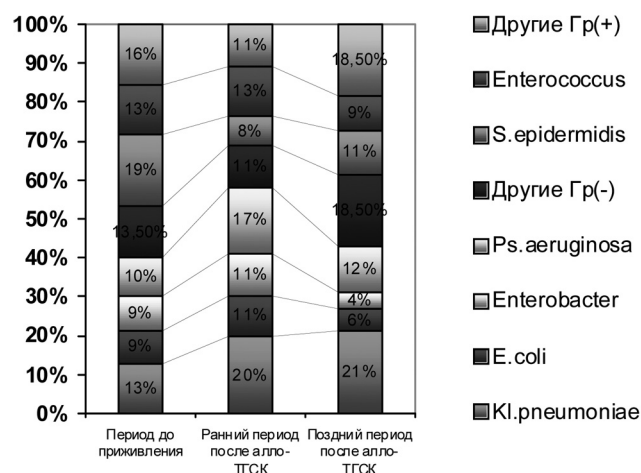


Рис. 1. Основные возбудители бактериальных инфекций в различные периоды после алло-ТГСК

исследуемых периодов. В 2008–2009 гг. общая резистентность микроорганизмов составляла 38%, в 2010–2011 гг. — 65%. При этом в большей степени увеличение резистентных к ципрофлоксацину форм наблюдалось среди аэробов (*Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*) и энтеробактерий (*Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*), а так же Гр(+) кокков (*Staphylococcus epidermidis*). Факторы риска развития бактериальных инфекций после алло-ТГСК представлены в таблице 6.

Таблица 6

Факторы риска развития бактериальных инфекций после алло-ТГСК

Факторы риска	ОП (95% ДИ)	p
<i>Связанные с реципиентом алло-ТГСК:</i>		
Возраст до 14 лет на момент алло-ТГСК	0,9 (0,6 – 1,2)	0,65
Отсутствие ремиссии на момент алло-ТГСК	1,3 (0,8 – 2,2)	0,148
Бактериальные инфекции до алло-ТГСК	1,5 (1,0 – 2,2)	0,002
Тяжелые бактериальные инфекции (пневмонии, бактериемии) до алло-ТГСК	5,5 (1,4 – 21)	0,001
Острый лейкоз	1,3 (0,9 – 1,8)	0,044
Колонизация ротовой полости патогенной грам-положительной и грам-отрицательной флорой	1,7 (1,0 – 2,7)	0,015
Нейтропения более 10 дней	1,0 (0,8 – 1,4)	0,543
<i>Связанные с характеристиками донора и процедурой алло-ТГСК:</i>		
ТГСК от частично HLA-совместимого донора	1,5 (0,8 – 2,9)	0,098
Использование гемопоэтических стволовых клеток периферической крови в качестве трансплантата	0,7 (0,4 – 1,2)	0,319
Немиелоаблативный режим кондиционирования	1,1 (0,6 – 1,9)	0,622
<i>Связанные с развившимися осложнениями после алло-ТГСК:</i>		
Острая РТПХ 2 – 4 степени	2,3 (1,1 – 4,9)	0,008
Острая РТПХ 3 – 4 степени	3,8 (1,2 – 11,5)	0,002
Острая РТПХ 4 степени	3,6 (0,9 – 14,3)	0,043
Острая РТПХ кишечника	6,3 (1,6 – 24,7)	<0,001
Острая РТПХ кишечника 3 – 4 степени	7,5 (1,0 – 52,8)	0,01
Острая РТПХ печени	3,7 (0,9 – 14,8)	0,027
Использование глюкокортикостероидов в терапии острой РТПХ	1,8 (1,0 – 3,1)	0,008
Хроническая РТПХ	0,9 (0,4 – 1,8)	0,85
Использование моноклональных антител в терапии пациентов с хронической РТПХ	2,0 (0,9 – 4,4)	0,036
Инвазивный микоз	2,2 (1,4 – 3,7)	<0,001
Реактивация ЦМВ после алло-ТГСК	2,5 (1,3 – 5,0)	0,001
Реактивация вируса простого герпеса после алло-ТГСК	2,1 (1,0 – 5,6)	0,043

Общая выживаемость (ОВ) после алло-ТГСК у детей и подростков с БИ составила 36,3%, без БИ – 87,1% ($p < 0,001$). Достоверно влияло на исход алло-ТГСК количество ($p < 0,001$) и тяжесть ($p < 0,001$)

перенесенных пациентом бактериальных осложнений (рис. 2). ОВ при более двух эпизодах БИ составляла 29,5%. ОВ при нетяжелых БИ – 63,3%, при тяжелых бактериальных осложнениях, таких как бактериемия, пневмония, – 27,7% (см. рис. 2).

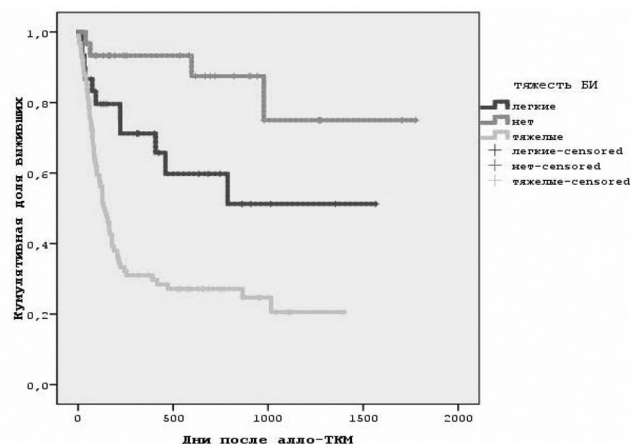


Рис. 2. Общая выживаемость больных после алло-ТГСК в зависимости от тяжести БИ

В последние годы эпидемиология возбудителей БИ у пациентов после алло-ТГСК видоизменяется и имеет отличия в различных трансплантационных клиниках. В 1960 – 1970-е гг. в 60 – 70% случаев преобладали бактериальные осложнения, вызванные Гр(-) возбудителями, в основном *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp. Частота инфицирования грам-положительными бактериями (Гр(+)) составляла около 30%, среди них доминирующим возбудителем являлся *Staphylococcus aureus*. В 1980 – 1990-е гг. в этиологической структуре бактериальных осложнений отмечался рост доли Гр(+) возбудителей (коагулазо-негативные стафилококки, *Streptococcus viridans* spp.), что связано с широким использованием центральных венозных катетеров и вероятностью колонизации их микрофлорой кожи; применением в режимах химиотерапии препаратов, вызывающих тяжелые повреждения слизистых оболочек; назначением на первом этапе эмпирической терапии антибиотиков, наиболее эффективных в отношении грам-отрицательной флоры; проведение селективной деконтаминации желудочно-кишечного тракта препаратами с преимущественной антиграм-отрицательной активностью [15 – 18]. В течение последних десятилетий на фоне использования антибактериальной профилактики фторхинолонами отмечается рост частоты БИ, вызванных резистентной Гр(-) флорой (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.), инфекций, ранее считавшихся редкими или малопатогенными микроорганизмами (*Leuconostoc* spp., *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*), а также рост резистентности к фторхинолонам Гр(+)

флоры (коагулазо-негативных стафилококков и стрептококков) [19]. В настоящее время, согласно исследованиям IATCG EORTC (Международная кооперативная группа по антимикробной терапии Европейского общества по изучению и лечению рака), на долю Гр(-) бактерий приходится 31 – 33%, в то время как частота выявления Гр(+) бактерий составляет 60 – 70% [15, 17].

Применение цитостатических препаратов в режиме кондиционирования перед алло-ТГСК приводит к индуцированному развитию абсолютной нейтропении (снижению уровня нейтрофилов менее $0,1 \times 10^9/\text{л}$), дефекту фагоцитоза и нарушению целостности слизистых оболочек. Кожные покровы, слизистые оболочки, желудочно-кишечный тракт, которые в норме содержат бактерии, становятся резервуарами потенциально патогенных микроорганизмов. Центральные венозные катетеры, длительно используемые для парентерального введения лекарственных средств, препаратов крови и парентерального питания, также могут быть входными воротами для условно-патогенных микроорганизмов (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*). В периоде до приживления трансплантата после алло-ТГСК наиболее типичными возбудителями являются коагулазо-негативные стафилококки, грам-негативные азробы (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). При этом грам-негативная (Гр(-)) бактериемия способна вызывать молниеносный септический шок и являться одной из причин ранней летальности у реципиентов алло-ТГСК [7, 14, 19, 20].

Анализ результатов проведенного нами исследования свидетельствует, что бактериальные инфекционные осложнения являются одной из серьезных проблем, определяющих общую выживаемость у пациентов после алло-ТГСК. Представленная структура и этиология БИ сопоставима с данными ранее опубликованных исследований, имея некоторые отличия. По результатам проведенного исследования наиболее важными возбудителями БИ являлись: *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp. В **этиологической структуре** доля инфекций, вызванных Гр(-) флорой, преобладала. Однако отмечена тенденция к росту доли Гр(+) флоры, рост доли штаммов, резистентных к ципрофлоксацину (некоторые *Acinetobacter* 50%, *E. coli* 76%, *Klebsiella* spp. 62%, *P. aeruginosa* 70%), что за период 2008 – 2009 гг. составило 38%, а в 2010 – 2011 гг. – 65%. Бактериемия, независимо от периода наблюдения, имеет большой процент встречаемости (около 30%). Частота развития инфекций мочевыводящих путей в позднем периоде после алло-ТГСК в 2 раза ниже, чем в периоде до

приживления трансплантата (13% против 29% соответственно). Частота развития инфекций ЛОР-органов и мягких тканей оставалась на относительно постоянном уровне во всех периодах после алло-ТГСК и не превышала 14%.

В результате исследования выявлены наиболее значимые факторы риска развития БИ, связанные с реципиентом и с развившимися осложнениями после алло-ТГСК. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют, что снижение интенсивности глюкокортикостероидной терапии при лечении острой РТПХ, ограничение использования моноклональных антител в терапии хронической РТПХ, контроль вирусной и грибковой инфекций могут снизить риск развития БИ у реципиентов алло-ТГСК. Верификация очага инфекции в ротовой полости, даже на уровне носительства или латентно-протекающей инфекции, и его санация до алло-ТГСК является важной мерой профилактики БИ. Факторы, связанные с характеристиками донора и процедурой алло-ТГСК, статистически значимо не влияли на развитие БИ.

Общая чувствительность тестируемых возбудителей к ципрофлоксацину, используемому в качестве селективной деконтаминации кишечника, составила 30%. Ципрофлоксацин оставался умеренно эффективным препаратом с достаточно широким спектром действия. Таким образом, существует необходимость проведения постоянного мониторинга эпидемиологии бактериальных возбудителей инфекционных осложнений, анализа частоты инфекций и спектра возбудителей в отдельных трансплантационных клиниках, контроля эффективности антибактериальных препаратов, используемых для лечения реципиентов алло-ТГСК.

Выводы

1. Бактериальные осложнения различной степени тяжести возникают у 80% больных после алло-ТГСК, из них тяжелые (бактериемия, пневмония) у 60% пациентов.

2. Основными факторами риска БИ являются диагноз острого лейкоза, тяжелые инфекционные осложнения в анамнезе до алло-ТГСК, колонизация ротовой полости патогенной Гр(+) и Гр(-) микрофлорой, острая РТПХ, использование глюкокортикостероидов в терапии острой РТПХ, моноклональных антител в терапии хрРТПХ, реактивация цитомегаловирусной инфекции, инвазивный аспергиллез.

3. Основные возбудители: *Kl. pneumoniae* (15%), *Escherichia coli* (8%), *Enterobacter* sp. (7%), *Pseudomonas* sp. (6,5%), *Enterococcus* sp. (16,5%), *S. epidermidis* (13,5%). При анализе изменения спектра выявленных микроорганизмов с течением времени в период 2008 – 2009 гг. и 2010 –

2011 гг. отмечено преобладание Гр(-) возбудителей, тенденция к росту доли Гр(+) флоры (42% vs 47%), *Enterococcus* spp. (14% vs 19,5%), «других» Гр(-) микроорганизмов (7% vs 12%) с достоверностью различий $p < 0,001$. Отмечена тенденция к возрастанию общей резистентности к ципрофлоксацину среди энтеробактерий, аэробной и Гр(+) кокковой флоры (38% vs 65%).

4. К наиболее частым БИ относятся поражение мочевыводящих путей (30,6%), респираторные инфекции (22,5%) и бактериемия (38,7%). Частота развития инфекций мочевыводящих путей в позднем периоде в 2 раза меньше, чем в периоде до приживления (13% против 29%, соответственно). Развитие бактериальных осложнений со стороны ЛОР-органов и мягких тканей не превышает 14% во всех периодах после алло-ТГСК.

5. Общая выживаемость больных с развившимися бактериальными осложнениями различной степени тяжести составляет 36,3% ($p < 0,001$). Общая выживаемость при нетяжелых БИ — 63,3%, при тяжелых бактериальных осложнениях, таких как бактериемия, пневмония, — 27,7%.

6. Количество инфекционных эпизодов и их тяжесть после алло-ТГСК статистически значимо ухудшает показатели общей выживаемости больных с БИ.

Литература

- Афанасьев, Б.В. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток крови / Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская // *Детская онкология : руководство*. — СПб., 2002. — С. 90—108.
- Зубаровская, Л.С. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при гемобластозах / Л.С. Зубаровская, Л.М. Фрегатова, Б.В. Афанасьев // *Клиническая онкогематология / под ред. проф. М.А. Волковой*. — М., 2001.
- Зубаровская, Л.С. Особенности трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей : методическое пособие для врачей / Л.С. Зубаровская [и др.]. — СПб., 2009.
- Gratwohl, A. Current trends in hematopoietic stem cell transplantation in Europe / A. Gratwohl [et al.] // *Blood*. — 2002. — V. 100. — P. 2374—2386.
- Kolbe, K. Infections complications during neutropenia subsequent to peripheral blood stem transplantation / K. Kolbe [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. — 1997. — V. 19. — P. 143—147.
- Румянцев, А.Г. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей : руководство для врачей / А.Г. Румянцев, А.А. Масчан. — М.: Медицинское информационное агентство, 2003. — С. 323—354.
- Einsele, H. Infectious complications after allogeneic stem cell transplantation: epidemiology and interventional therapy strategies — guidelines of the Infectious Disease Working Party (AGIHO) of German Society of Hematology and Oncology (DGHO) / H. Einsele [et al.] // *Annual Hematology*. — 2003. — V. 82. — P. 175—185.
- Румянцев, А.Г. Сопроводительная терапия и контроль инфекций при гематологических и онкологических заболеваниях / А.Г. Румянцев, А.А. Масчан, Е.В. Самочатова. — М.: Медпрактика-М, 2006. — С. 109—113.
- Mohty, M. High rate of secondary viral and bacterial infections in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation / M. Mohty [et al.] // *Bone Marrow Transplant*. — 2000. — V. 26 (3). — P. 251—255.
- Junghanss, C. Incidence and outcome of bacterial and fungal infections following nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a matched control study / C. Junghanss [et al.] // *Biol. Blood and Marrow Transplantation*. — 2002. — V. 8. — P. 512—520.
- Reisner, B.S. Specimen Processing. In *Manual of Clinical Microbiology* / B.S. Reisner [et al.] ; eds P.R. Murray [et al.]. — 7-th ed. — Washington, 1999. — 897 p.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards 2003. M100-S13 (M2) Disk Diffusion Eleventh informational Suppl. NCCLS.
- Bergys Manual of Systematic Bacteriology, 2001. — V.1. — P. 155—166.
- Zinner, S.H. Changing epidemiology of infections in patients with neutropenia and cancer: emphasis on gram-positive and resistant bacteria / S.H. Zinner // *Clinical Infectious Diseases*. — 1999. — V. 29. — P. 495—502.
- Клясова, Г.А. Рациональная антибактериальная терапия при критической нейтропении / Г.А. Клясова // *Инфекции и антимикробная терапия*. — 2000. — № 1. — С. 16—24.
- Клясова, Г.А. Септицемия при нейтропении: алгоритмы диагностики и антибактериальной терапии / Г.А. Клясова // *Consilium medicum*. — Экстра-выпуск. — 2001. — С. 14—18.
- Klastersky, J. Treatment of neutropenic infection: trends towards monotherapy? / J. Klastersky // *Supportive Care in Cancer*. — 1997. — V. 5. — P. 365—370.
- Wisplinghoff, H. Current trends in the epidemiology of nosocomial bloodstream infections in patients with hematological malignancies and solid neoplasms in hospitals in the United States / H. Wisplinghoff [et al.] // *Clin. Infect. Dis*. — 2003. — V. 36. — P. 1103—1110.
- Mikulska, M. Blood stream infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: reemergence of gram-negative rods and increasing antibiotic resistance / M. Mikulska [et al.] // *Biol. Blood Marrow Transplant*. — 2009. — V. 15. — P. 47—53.
- Ochs, L. Late infections after allogeneic bone marrow transplantation: comparison of incidence in related and unrelated donor transplant recipients / L. Ochs [et al.] // *Blood*. — 1995. — V. 86. — P. 3979—3986.

Авторский коллектив:

Аверьянова Мария Юрьевна — врач-гематолог отделения трансплантации костного мозга для подростков Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова; тел.: 8-904-614-50-26, e-mail: averyanova-mariya@rambler.ru

Вавилов Владимир Николаевич — заведующий отделением трансплантации костного мозга для взрослых Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, к.м.н.; тел.: 934-02-56, e-mail: vladimir_vavilov@mail.ru

Бондаренко Сергей Николаевич — заведующий отделением трансплантации костного мозга для подростков Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, к.м.н.; тел.: 8-921-994-35-70, e-mail: dr.sergeybondarenko@gmail.com

Успенская Ольга Семеновна — врач-гематолог отделения трансплантации костного мозга для подростков Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, к.м.н.; тел.: 8-921-917-08-96, e-mail: o.uspenskaya@mail.ru

Станчева Наталья Васильевна — заведующая отделением трансплантации костного мозга для детей Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, к.м.н.; тел.: 8-921-971-07-19, e-mail: n.stancheva@mail.ru

Семенова Елена Владимировна — доцент Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, к.м.н.; тел.: 8-921-420-46-22, e-mail: alena-semenova@yandex.ru

Волкова Алиса Георгиевна — врач-эндоскопист Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова; тел.: 8-911-919-01-36, e-mail: alisa-md@inbox.ru

Смирнов Борис Иванович — доцент кафедры радиотехнических систем Санкт-Петербургского государственного электротехнического университета им. В.И. Ульянова, к.т.н.; тел.: 8-921-403-14-97, e-mail: mdandmcandapl@gmail.com

Баранова Ирина Бембеевна — челюстно-лицевой хирург кафедры хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова; тел.: 8-921-770-00-66, e-mail: irina@acstom.ru

Зубаровская Людмила Степановна — профессор кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, д.м.н.; тел.: 8(812)233-44-73, e-mail: bmt@spb-gmu.ru

Климко Николай Николаевич — заведующий кафедрой клинической микологии, аллергологии и иммунологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, д.м.н., профессор; тел.: 8-911-990-60-96, e-mail: klimko@mail.ru

Афанасьев Борис Васильевич — директор Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)233-47-51, e-mail: bmt-director@spb-gmu.ru

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СМЕШАННЫХ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ В ЭНДЕМИЧНОМ РЕГИОНЕ

Е.С. Алешковская, Н.А. Благов, В.А. Базунова

Ярославская государственная медицинская академия, Ярославль

Clinico-epidemiologicheskyy aspects of the mixed tick-borne infections in the endemic region

E.S. Aleshkovskaya, N.A. Blagov, V.A. Bazunova

Yaroslavl state medical academy, Yaroslavl

Резюме. Целью проведенного исследования было выявление клинко-эпидемиологических особенностей смешанных клещевых инфекций — клещевого боррелиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека. В весенне-летний период были обследованы 146 пациентов с клещевым боррелиозом. В результате у 45 (30,82 %) пациентов достоверно диагностировали смешанную клещевую инфекцию. Выявлены особенности клинических проявлений микст-инфекции: катаральные явления (20 %), поражение печени (33 %), почек (31,7 %), частые вторичные эритемы (20 %). Определены изменения в гемограмме: тромбоцитопения (42,2 %), анемия (20 %), лейкопения (13,3 %).

Ключевые слова: гранулоцитарный анаплазмоз человека, клещевой боррелиоз, смешанная инфекция.

Abstract. Detection of clinico-epidemiological features of the mixed tick-borne infections — tick-borne Lyme disease and a human granulocytic anaplasmosis was the purpose of the conducted research. During the spring — summer period 146 patients with tick-borne borreliosis were surveyed. As a result at 45 (30,82 %) patients authentically diagnosed the mixed tick-borne infection. Features of clinical manifestations of a mixed tick-borne infection revealed: catarrhal phenomena (20 %), liver defeats (33 %), nephros (31, 7 %), frequent secondary erythems (20 %). Changes in haemogram defined: thrombocytopenia (42,2 %), anemia (20 %), leukopenia (13,3 %).

Key words: human granulocytic anaplasmosis, Lyme disease, the mixed infection.

Введение

В настоящее время в России отмечается тенденция к расширению ареала многих природно-очаговых клещевых инфекций. Практически во всех федеральных округах РФ зарегистрированы случаи заболевания клещевым энцефалитом (КЭ) и иксодовым клещевым боррелиозом (ИКБ). Самые высокие показатели заболеваемости данными инфекциями зарегистрированы в Сибирском, Уральском, Северо-Западном федеральных округах (ФО), низкая заболеваемость данными инфекциями — в Южном ФО [8]. Первыми были описаны симптомы клещевого энцефалита в 1936 — 1940 гг. отечественными учеными на Дальнем Востоке [7]. Позднее, в 1975 г. в США было дано описание болезни Лайма, а в 1982 г. был обнаружен возбудитель данного заболевания [5]. Учитывая тот факт, что клещи являются переносчиками многих возбудителей, в последние годы ученые стали описывать симптомы и выявлять лабораторными методами ранее не известные клещевые инфекции. К ним можно отнести моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ) и гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ), бабезиоз. Данные инфекции начали изучаться в США с 1987 г., а в 1998 г. выявлены первые случаи заболевания МЭЧ на территории России [3, 4]. К настоящему времени случаи забо-

левания ГАЧ диагностированы во многих регионах РФ [2 — 4, 10 — 12].

В случае присасывания клеща человек рискует заразиться одним или несколькими возбудителями. Смешанные клещевые инфекции могут быть представлены одновременно двумя и даже тремя видами боррелий, боррелиями и анаплазмами, боррелиями и эрлихиями, бактериями (боррелии, анаплазмы, эрлихии) и бабезиями. Вирус клещевого энцефалита встречается вместе с любым из упомянутых агентов или даже с любыми сочетаниями двух из них, за исключением одновременных сочетаний анаплазм и эрлихий [1]. По данным американских исследователей, на примере боррелий и анаплазм установлено, что передача каждого из этих инфекционных агентов может происходить независимо друг от друга, а различия во времени передачи обеспечивают последовательный характер заражения разными возбудителями в зависимости от длительности присасывания клеща [13].

По данным ряда исследователей, установлено, что наиболее часто встречается инфицирование боррелиями и возбудителями гранулоцитарного анаплазмоза человека [3, 6]. В результате микст-инфицирования изменяется клиническая картина заболевания, выраженность и длительность некоторых симптомов [9].

Цель исследования — выявить особенности эпидемиологии и клинических проявлений смешанных клещевых инфекций (иксодового клещевого боррелиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека).

Материалы и методы

В весенне-летние периоды 2006–2011 гг. проведено комплексное клинико-лабораторное исследование 146 пациентов, госпитализированных в Ярославскую областную инфекционную клиническую больницу № 1 с диагнозом «Клещевой боррелиоз». Для серологического исследования на антитела к возбудителю гранулоцитарного анаплазмоза человека исследовали кровь в динамике заболевания. При поступлении в стационар (в период разгара) определяли наличие IgM и IgG к возбудителям ГАЧ и повторяли исследование через 9–10 дней (период реконвалесценции). В целом, от 146 больных было исследовано 452 сыворотки на антитела к возбудителям ГАЧ.

Для серологической диагностики клещевых инфекций использовали тест-системы ООО «Омникс» ГАЧ-ИФА-IgM, ГАЧ-ИФА-IgG. При обработке результатов использовали расчеты, приведенные в инструкции. За положительные принимали результаты с коэффициентом серопозитивности (КС) >1,1 с ориентировочным титром сыворотки 1:100 и более. Критериями лабораторного подтверждения диагноза ГАЧ было 4-кратное нарастание IgM и/или IgG в динамике заболевания, сероконверсия IgM на IgG, высокие значения IgM/IgG (более 1:800) [4]. На основании вышеприведенных серологических критериев гранулоцитарный анаплазмоз человека был диагностирован у 45 (30,82%) пациентов.

Таким образом, была сформирована группа из 45 человек, у которых была выявлена смешанная инфекция — иксодовый клещевой боррелиоз и гранулоцитарный анаплазмоз человека.

Результаты и обсуждение

Среди пациентов с диагностированной клещевой микст-инфекцией (ИКБ + ГАЧ) преобладали мужчины — 27 (60%), женщин было меньше — 18 (40%). Средний возраст составил $55,50 \pm 11,41$ лет. Среди больных чаще встречались лица старше 50 лет — 71,1%. Отмечена низкая заболеваемость лиц 18–30 лет — 4,4%. Пациенты в возрасте от 30 до 50 лет заболевали в 24,4% случаев.

Присасывания клещей наблюдались с марта по август с пиком активности в мае — у 22 (48,8%) человек.

Среди обследованных пациентов 23 (51,1%) указывали на то, что ранее (1–2 года назад) подвергались присасыванию клещей. Впервые присасывание клеща отмечали 13 (28,9%) больных, не снимали с тела — 9 (20%) человек. Клещи были удалены

через 2 суток и более у 51,1% пациентов, в течение первых суток их извлекли 15 (33,3%) человек.

Случаи присасывания клещей у четверти пациентов происходили в городской черте при посещении парков и скверов. Больные подвергались нападению клещей во всех районах области, но наиболее часто в Ярославском (19,1%), Даниловском и Тутаевском районах (17,7%).

Пик заболеваемости приходился на май — июнь (33,8–38,2%) с последующим снижением.

Инкубационный период варьировал от 1 до 30 дней, в среднем он составил $11,76 \pm 6,49$ дней.

В клинической картине смешанной клещевой инфекции у 43 (95,5%) пациентов наблюдалась мигрирующая эритема (МЭ), лихорадка — у 27 (60%), астеновегетативный синдром — у 25 (55,6%) человек. Безэритемная форма диагностирована у 2 (4,5%) пациентов (табл. 1).

Таблица 1

Клиническая картина смешанных клещевых инфекций (КБ + ГАЧ) в Ярославской области

Симптом	Количество пациентов	
	абс.	%
МЭ	43	95,5
Безэритемная форма	2	4,5
Лихорадка	27	60
Вторичные эритемы	9	20
Геморрагическая сыпь	1	2,2
Слабость, недомогание	25	55,6
Головная боль	11	24,4
Катаральные явления*	9	20
Поражение периферической нервной системы	12	26,6
Поражение сердца	11	24,4
Увеличение печени*	15	33
Артралгии	3	6,7
Поражение почек*	13	31,7
Тромбоцитопения*	19	42,2
Анемия*	9	20
Лейкопения*	6	13,3

* — симптомы, характерные для ГАЧ.

При поступлении субфебрильная температура диагностировалась у 25 (55,6%) человек, в течение следующих 1–3 дней у 5 (11,1%) пациентов она достигала высоких значений (39°C и выше). Умеренная лихорадка (38–39°C) наблюдалась у 9 (20%) человек с последующим снижением ее до субфебрильных цифр. Длительность лихорадки была от 1 до 8 дней, в среднем 2,5 дня.

В клинической картине смешанной клещевой инфекции выявили некоторые симптомы, характерные для ГАЧ. Катаральные явления в виде за-

ложенности носа и ринореи, явлений фарингита наблюдались у 9 (20%) пациентов. У каждого пятого пациента с микст-инфекцией наблюдались вторичные МЭ в виде типичных гомогенных или кольцевидных эритем диаметром от 3 до 40 см. При моноинфекции клещевого боррелиоза частота вторичных эритем в исследуемом регионе составляла 6,9% [2]. У одного пациента, наряду со вторичными эритемами, наблюдалась мелкоочечная геморрагическая сыпь на голенях, бедрах, единичные элементы на плечах, предплечьях, животе. Поражение почек выявлено у 13 (31,7%) человек и проявлялось гипоиostenурией (относительная плотность мочи менее 1,010), протеинурией (17,6%), лейкоцитурией (7,3%), эритроцитурией (11,7%). Увеличение размеров печени, дискомфорт в правом подреберье наблюдались у 15 (33%) пациентов.

При оценке степени тяжести определили, что в легкой форме заболевание протекало у 25 (55,5%) пациентов с микст-инфекцией, средняя степень тяжести диагностировалась у 19 (42,2%) пациентов, в тяжелой форме заболевание наблюдалось у 1 (2,2%) больного.

При анализе показателей гемограммы у пациентов со смешанной клещевой инфекцией были выявлены изменения, приведенные в таблице 2.

Таблица 2

Показатели гемограммы у пациентов со смешанной клещевой инфекцией (КБ + ГАЧ)

Показатель	Значения		
	Разгар заболевания (n = 45)	Реконвалесценция (n = 41)	p
Лейкоциты	5,96±1,41	6,0±1,67	p<0,05
Палочкоядерные нейтрофилы	2,75±1,93	1,86±0,74	p<0,05
Сегментоядерные нейтрофилы	66,2±6,51	62,19±5,03	p>0,05
Лимфоциты	28,07±6,39	32,15±4,52	p<0,001
Моноциты	3,94±1,89	4,53±2,24	p<0,05
Тромбоциты	184,09±57,79	214,8±62,49	p>0,05
СОЭ	14,77±10,18	12,66±9,48	p<0,001
Эритроциты:			p>0,05
мужчины	4,55±0,45	4,67±0,41	
женщины	4,30±0,49	4,55±0,43	
Гемоглобин:			p>0,05
мужчины	140,76±13,14	143,51±11,05	
женщины	124,0±12,87	129,11±14,37	

p — достоверность различий между соответствующими группами; n — число обследованных.

Лейкопения ($Л-2,8-3,7 \times 10^9/л$) наблюдалась у 6 (13,3%) пациентов. В лейкоцитарной формуле количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов уменьшалось в динамике заболева-

ния. Тромбоцитопения (менее $178 \times 10^9/л$) наблюдалась у 19 (42,2%) пациентов с микст-инфекцией. Анемия была выявлена у 9 (20%) больных.

Выводы

1. На территории Ярославской области у 30,8% пациентов с клещевым боррелиозом серологическими методами диагностировано инфицирование возбудителем гранулоцитарного анаплазмоза человека.

2. Смешанной клещевой инфекцией (ИКБ + ГАЧ) чаще болели мужчины старше 50 лет.

3. Инфицирование возбудителями клещевого боррелиоза и анаплазмоза у четверти пациентов наблюдалось в черте г. Ярославля.

4. Длительность присасывания клещей у половины наблюдаемых больных была 2 суток и более.

5. Выявлены некоторые особенности клинической картины смешанной клещевой инфекции: катаральные явления в виде ринореи и явлений фарингита (20%), поражение печени (33%), почек (31,7%), относительно часто встречались вторичные эритемы (20%), возможно появление геморрагической сыпи (2,2%).

6. Смешанная клещевая инфекция в 44,4% случаев протекала в среднетяжелой форме.

7. Определены ряд изменений в гемограмме у больных с микст-инфекцией: лейкопения (13,3%), снижение числа гранулоцитов в динамике заболевания, тромбоцитопения (42,2%), анемия (20%).

Литература

- Алексеев, А.Н. Трансмиссивные болезни: происхождение и механизмы, обеспечивающие их передачу кровососущими членистоногими / А.Н. Алексеев // Инфекционные болезни: проблемы здравоохранения и военной медицины : тезисы докл. Российской научно-практической конференции. — СПб., 2006. — С. 65—68.
- Алешковская, Е.С. Клинико-лабораторная характеристика иксодового клещевого боррелиоза в Центральном регионе России : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.С. Алешковская. — СПб.: СПб МАПО, 2009. — 22 с.
- Афанасьева, М.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика гранулоцитарного анаплазмоза человека в России (на примере Пермского края) : автореф. дис.... канд. мед. наук / М.В. Афанасьева. — М., 2006. — 22 с.
- Коренберг, Э.И. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в Пермском крае (этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение и профилактика) / Э.И. Коренберг [и др.]. — Пермь, 2007. — С. 17—37.
- Лобзин, Ю.В. Лайм-боррелиоз (иксодовые клещевые боррелиозы) / Ю.В. Лобзин, А.Н. Усков, С.С. Козлов. — СПб.: Фолиант, 2000. — 157 с.
- Матущенко, Е.В. Совершенствование лабораторной верификации клещевых инфекций в условиях сочетанности природных очагов : автореф. дис.... канд. мед. наук / Е.В. Матущенко. — Омск, 2006. — 21 с.
- Михайленко, А.А. Первооткрыватель клещевого энцефалита / А.А. Михайленко. — СПб., 2005. — 134 с.
- Платонов, А.Е. Природно-очаговые инфекции в XXI веке в России / А.Е. Платонов [и др.] // Эпиде-

миология и инфекционные болезни. — 2009. — № 2. — С. 30–35.

9. Попонникова, Т.В. Роль иммунотерапии в комплексном лечении клещевых инфекций у детей / Т.В. Попонникова, О.С. Пиневич, Т.Ю. Панько // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии имени И.И. Мечникова. — 2007. — № 1 (8). — С. 163–167.

10. Тетерин, В.Ю. Иммуноферментный анализ и полимеразная цепная реакция в лабораторной диагностике гранулоцитарного анаплазмоза человека / В.Ю. Тетерин [и др.] // Журнал инфектологии — 2012. — Т. 4, № 2. — С. 33–39.

11. Усков, А.Н. Смешанные инфекции, передающиеся иксодовыми клещами в Северо — Западном регионе России (клиника, диагностика, лечение) : автореф. дис. ... докт. мед. наук / А.Н. Усков. — СПб., 2003. — С. 37.

12. Шпынов, С.Н. Новые данные о выявлении эрлихий и анаплазм в иксодовых клещах в России и Казахстане / С.Н. Шпынов [и др.] // Мед. паразитология. — 2004. — № 2 — С. 10–14.

13. Levin, M.L. Disparity in the natural cycles of *Borrelia burgdorferi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis / M.L. Levin, F. des Vignes, D. Fish // Emerg. Infect. Dis. — 2000. — V. 5, № 2. — P. 204–208.

Авторский коллектив:

Алешковская Елена Сергеевна — ассистент кафедры инфекционных болезней с эпидемиологией Ярославской государственной медицинской академии, к.м.н.; тел.: 8(4852)738-748, e-mail: elena.alesh@rambler.ru

Благов Николай Алексеевич — заведующий кафедрой инфекционных болезней с эпидемиологией Ярославской государственной медицинской академии, д.м.н., профессор, член-корр. РАЕН; тел.: 8(4852)738-748

Базунова Варвара Алексеевна — аспирант кафедры инфекционных болезней с эпидемиологией Ярославской государственной медицинской академии; тел.: 8(4852)738-748

НЕЗАВИСИМЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ВЕРТИКАЛЬНОЙ ТРАНСМИССИИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА У ДЕТЕЙ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМ КОНТАКТОМ ПО ВИЧ

В.Б. Денисенко, Э.Н. Симованьян, В.В. Пушкарная

Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

Independent predictors of cytomegalovirus vertical transmission in children with perinatal HIV contact

V.B. Denisenko, E.N. Simovanian, V.V. Pushkarnaya

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don

Резюме. Обследованы 102 пары «ВИЧ-инфицированная беременная женщина с цитомегаловирусной инфекцией — ВИЧ-отрицательный ребенок». Вертикальная трансмиссия цитомегаловируса реализовалась у 20 % женщин. У 90 % детей с внутриутробной цитомегаловирусной инфекцией заболевание протекало в клинически манифестной форме с формированием тяжелой полиорганной патологии. При использовании модели многофакторной логистической регрессии установлено, что независимыми предикторами вертикальной трансмиссии цитомегаловируса являлись количество Т-хелперов менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$, стадия вторичных заболеваний и угроза прерывания беременности. Чувствительность и специфичность прогнозирования риска вертикальной трансмиссии цитомегаловируса при наличии одновременно всех трех предикторов составляли 90 %.

Ключевые слова: дети, цитомегаловирусная инфекция, перинатальный контакт по ВИЧ, независимые предикторы.

Abstract. 102 pair «HIV infected pregnant women with cytomegalovirus infection — HIV negative child» were examined. Cytomegalovirus vertical transmission were realized in 20 % women. Congenital cytomegalovirus infection in 90 % children were proceed in clinical demonstrative form with severe multiorgan pathology formation. Multifactorial logistic regression model use demonstrate, that independent predictors of cytomegalovirus vertical transmission were T helper count less than $0,5 \times 10^9/\text{l}$, stage of secondary diseases and threat of pregnancy interruption. Forecasting of risk cytomegalovirus vertical transmission sensitivity and specificity in the presence of at the same time all three predictors were 90 %.

Key words: children, cytomegalovirus infection, perinatal HIV contact, independent predictors.

Введение

В настоящее время в нашей стране наблюдается быстрое распространение ВИЧ-инфекции среди взрослых, в том числе женщин фертильного возраста, что привело к увеличению числа детей с перинатальным контактом по ВИЧ [1, 2]. Применяемые в настоящее время схемы химиопрофилактики позволяют существенно снизить риск вертикальной передачи ВИЧ, поэтому подавляющее большинство детей ВИЧ-инфицированных женщин не заражаются этим вирусом [3]. Вместе с тем, даже при отсутствии ВИЧ-инфекции у детей с перинатальным контактом по ВИЧ имеют место широкий спектр инфекционной и неинфекционной патологии, высокая летальность [4, 5].

Одним из факторов, оказывающих неблагоприятное влияние на состояние здоровья этой категории пациентов, является цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ). Известно, что ЦМВИ является наиболее частой и тяжелой внутриутробной инфекцией, которую диагностируют в общей попу-

ляции у 0,3—3% новорожденных [6—8]. Частота клинически манифестных форм в периоде новорожденности достигает 10—15%, а в дальнейшем у 5—20% детей возникают отдаленные последствия внутриутробной ЦМВИ.

Исследованиями последних лет доказано, что у женщин с ВИЧ-инфекцией имеет место более высокий риск вертикальной трансмиссии цитомегаловируса (ЦМВ) по сравнению с общепопуляционными показателями [9, 10]. Это связано с развитием у ВИЧ-инфицированных женщин глубокой иммуносупрессии, маркером которой служит снижение количества Т-хелперов (CD4^+ -лимфоцитов) в крови [11, 12]. Формирование вторичного иммунодефицитного состояния (ИДС) приводит к нарушению контроля за репликацией ЦМВ [5]. Кроме того, неблагоприятную роль играют другие оппортунистические инфекции, которые являются кофакторами репликации ЦМВ [12]. Высокая частота хронических гинекологических заболеваний, патологии периодов беременности

у ВИЧ-инфицированных женщин приводят к повышению проницаемости фетоплацентарного барьера и способствуют вертикальной трансмиссии возбудителя [13].

К клиническим особенностям внутриутробной ЦМВИ у детей с перинатальным контактом по ВИЧ относятся более тяжелое течение, частое развитие тяжелой полиорганной патологии, формирование микст-инфекции, осложнений, летальных исходов [9, 10]. Это диктует необходимость прогнозирования риска внутриутробной ЦМВИ у детей ВИЧ-инфицированных женщин.

Цель исследования — охарактеризовать независимые предикторы вертикальной трансмиссии ЦМВ у детей с перинатальным контактом по ВИЧ.

Задачи исследования

1. Изучить показатели, характеризующие состояние здоровья ВИЧ-инфицированных беременных женщин с ЦМВИ с учетом вертикальной трансмиссии ЦМВ.

2. Изучить состояние ВИЧ-статуса, особенности течения беременности и родов у ВИЧ-инфицированных женщин с ЦМВИ в зависимости от наличия у ребенка внутриутробной инфекции, вызванной этим вирусом.

3. Выявить независимые предикторы вертикальной трансмиссии ЦМВ у ВИЧ-инфицированных беременных женщин.

Материалы и методы

Обследованы 102 пары «ВИЧ-инфицированная беременная женщина с ЦМВИ — ВИЧ-отрицательный ребенок», в том числе 20 пар с вертикальной трансмиссией ЦМВ (20%) и 82 пар без нее (80%). От матерей было получено информированное согласие на участие в исследовании.

Клиническое и лабораторное обследование ВИЧ-инфицированных женщин при сроке беременности 12–14 недель проводили в соответствии с рекомендациями Российского научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом [14]. Изучали жалобы, анамнез заболевания и жизни, осуществляли клинический осмотр, параклиническое обследование (общий анализ крови, мочи, биохимическое исследование крови). ЦМВИ диагностировали на основании клинического обследования и обнаружения антител против ЦМВ методом иммуноферментного анализа (ИФА, тест-системы «Вектор-Бест», Россия). Вычисляли коэффициент позитивности (КП) антител — отношение оптической плотности лунки с сывороткой крови больного к оптической плотности контрольной лунки. В крови беременных определяли уровень вирусемии ВИЧ (вирусную нагрузку крови, ВНК) методом полимеразной цеп-

ной реакции (ПЦР, тест-системы «Ампли-сенс», Россия) с регистрацией полученных результатов на термоциклере «Rotor Gene» (Австралия). Количество Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$ -лимфоцитов) в крови исследовали в реакции непрямой иммунофлуоресценции с использованием двухпараметрических моноклональных антител производства «Beckman Coulter» (Франция). Результаты учитывали на лазерном проточном цитофлуориметре «EPIX-XL Coulter» (Франция). Степень иммуносупрессии определяли согласно критериям Центра по контролю за заболеваниями США [11]. ИДС 1 степени диагностировали при количестве $CD3^+CD4^+$ -лимфоцитов более $0,5 \times 10^9/\text{л}$, 2 степени — при $0,2–0,49 \times 10^9/\text{л}$, 3 степени — менее $0,2 \times 10^9/\text{л}$. Повторное клиническое обследование женщин осуществляли при сроке беременности 22–24 и 36–38 недель, а также во время родов.

Клинико-лабораторное обследование родившихся детей проводили в течение первых 14 дней жизни. Диагностику внутриутробной ЦМВИ осуществляли с использованием клинических, молекулярно-генетических (ПЦР), серологических (ИФА) и цитологических методов. Критериями диагностики являлись клинико-анамнестические данные, обнаружение IgM-антител и/или IgG-антител в титре выше материнского при обследовании в возрасте первых 2 недель жизни, увеличение титра IgG-антител при повторном исследовании через 2–3 недели (тест-системы «Вектор-Бест», Россия), выявление ДНК ЦМВ в крови и других биологических жидкостях методом ПЦР (тест-системы «Ампли-сенс», Россия), наличие клеток-цитомегалов в моче и слюне. У родившихся детей диагноз ВИЧ-инфекции был исключен, согласно рекомендациям Российского научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом [13], по результатам двух отрицательных результатов качественной ПЦР на ДНК про-вируса ВИЧ в возрасте 1–2 и 4–6 месяцев в сочетании с исчезновением материнских анти-ВИЧ-антител в возрасте 18 месяцев.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью компьютерной программы «R» (версия 12.11.1). Вариационные ряды количественных показателей оценивали на соответствие нормальному распределению по критерию Шапиро — Уилкса. В связи с тем, что часть вариационных рядов не соответствовала нормальному распределению, для их характеристики вычисляли медиану (Me) и интерквартильный интервал (ИКИ; 25 и 75 процентиля), а для выявления различий показателей использовали двусторонний вариант теста Манна — Уитни.

Для оценки достоверности различий относительных показателей применяли двусторонний вариант точного критерия Фишера. Анамнестиче-

ческие, клинические и лабораторные показатели, статистически различавшиеся между группами (при $p < 0,05$), исследовали методом логистической регрессии. Сначала факторы риска тестировали в однофакторной модели. Вычисляли отношение шансов (ОШ), его 95% доверительный интервал (95% ДИ) и достоверность модели. Факторы риска, показавшие статистическую значимость ($p < 0,05$), включали в многофакторную модель. Независимыми считали предикторы, статистически значимые в многофакторной модели ($p < 0,05$). По общепринятым формулам рассчитывали чувствительность и специфичность использования независимых предикторов для прогнозирования развития внутриутробной ЦМВИ [15].

Результаты и обсуждение

Клиническое обследование женщин показало, что возраст старше 30 лет имели 29% пациенток. Хроническими вирусными гепатитами С и В страдали 64% женщин, хронической соматической патологией (бронхиальной астмой, сахарным диабетом, хроническим пиелонефритом, желчно-каменной болезнью и др.) — 59%, наркоманией — 45%, туберкулезом — 10%, алкоголизмом — 10%. У большинства женщин диагностирована хроническая гинекологическая патология, в том числе метроэндометрит — у 62%, кольпит — у 35%, аднексит — у 15%. Установлено, что женщины, у которых произошло заражение ребенка ЦМВ, чаще имели возраст старше 30 лет, страдали наркоманией, хронической гинекологической патологией (метроэндометритом, кольпитом) (табл. 1).

Что касается ВИЧ-статуса, то у подавляющего большинства женщин (90%) диагностирована латентная стадия 3 по классификации В.И. Покровского (2001) [14]. У 10% пациенток имела место стадия вторичных заболеваний 4, которая характеризовалась присоединением оппортунистических инфекций. При клиническом обследовании у всех женщин обнаружена генерализованная лимфаденопатия, у 61% — увеличение размеров печени, у 6% — спленомегалия. Оппортунистические инфекции (кожно-слизистая форма инфекции простого герпеса, орофарингеальный кандидоз, бактериальные инфекции кожи и подкожной жировой клетчатки) диагностированы у 10% женщин. При исследовании иммунного статуса ИДС 1 степени выявлен у 32% беременных, ИДС 2 степени — у 59%, ИДС 3 степени — у 10%. Медиана количества Т-хелперов в крови составляла $0,35 \times 10^9/\text{л}$ (ИКИ $0,29 - 0,41 \times 10^9/\text{л}$). Уровень ВНК ВИЧ менее 10 000 коп./мл обнаружен у 46% женщин, 10 000 коп./мл и выше — у 54%. Медиана ВНК ВИЧ составила 90 000 коп./мл (ИКИ 87 000 — 93 000 коп./мл). При серологическом обследовании у всех женщин обнаружены антитела класса IgG

против ЦМВ (Ме КП 7,5 ед.; ИКИ 6,8 — 8,2 ед.). Антитела класса IgM не были обнаружены ни у одной женщины.

Таблица 1

Ассоциация состояния здоровья и ВИЧ-статуса беременных женщин с развитием внутриутробной ЦМВИ у детей

Показатели	Дети с внутриутробной ЦМВИ, n = 20		Дети без внутриутробной ЦМВИ, n = 82		P
	n	%	n	%	
Состояние здоровья					
Возраст старше 30 лет	10	50	20	24	0,031
Наркомания	14	70	32	39	0,022
Курение	11	55	43	52	1,000
Алкоголизм	4	20	5	6	0,071
Хронический гепатит В, С	13	65	52	63	1,000
Туберкулез	3	15	7	9	0,406
Хроническая соматическая патология	12	60	48	59	1,000
Хронический аднексит	3	15	12	15	1,000
Хронический метроэндометрит	19	95	44	56	0,001
Хронический кольпит	15	75	21	26	0,001
ВИЧ-статус					
Стадия ВИЧ-инфекции:					
Латентная стадия 3	14	70	78	95	0,003
Стадия вторичных заболеваний 4	6	30	4	5	0,003
Клинические симптомы:					
Генерализованная лимфаденопатия	20	100	82	100	1,000
Гепатомегалия	17	85	45	55	0,019
Спленомегалия	3	15	3	4	0,087
Оппортунистические инфекции	6	30	4	5	0,003
Степень иммуносупрессии:					
Степень 1	2	10	31	38	0,012
Степень 2 — 3	18	90	51	62	0,012
Вирусная нагрузка крови ВИЧ:					
Менее 10 000 коп./мл	2	10	45	55	0,001
10 000 коп./мл и выше	18	90	37	45	0,001

Таблица 2

**Ассоциация особенностей течения периодов
беременности и родов у ВИЧ-инфицированных
женщин с развитием внутриутробной ЦМВИ
у детей**

Показатели	Дети с внутриутробной ЦМВИ, n=20		Дети без внутриутробной ЦМВИ, n=82		P
	n	%	n	%	
Особенности течения беременности					
Порядковый номер беременности:					
1-я	3	15	22	27	0,549
2—3-я	3	15	37	45	0,033
4-я и более	14	70	23	28	0,001
Исходы предыдущих беременностей:					
Нет	3	15	22	27	0,549
Роды	2	10	30	37	0,029
Выкидыш	1	5	6	7	1,000
Медицинский аборт	14	70	24	29	0,001
Патология периода беременности:					
Гестоз	8	40	30	40	1,000
Угроза прерывания	11	55	21	26	0,015
Анемия	13	65	59	72	0,588
Гестационный пиелонефрит	6	30	26	32	1,000
Хорионамнионит	3	15	2	2	0,087
Хроническая внутриутробная гипоксия плода	10	50	36	44	0,627
Задержка развития плода	14	70	21	26	0,001
Аномальное положение плода	3	15	15	18	1,000
Патология периода родов					
Преждевременные роды	3	15	12	15	1,000
Длительный безводный период	11	55	23	28	0,033
Стремительные роды	2	10	7	9	1,000
Акушерское пособие	1	5	2	2	0,484
Инвазивное ведение родов	3	15	8	10	0,447

У женщин с вертикальной трансмиссией ЦМВ с более высокой частотой диагностировали стадию вторичных заболеваний 4. При клиническом обследовании у этих пациенток чаще выявляли гепатомегалию и оппортунистические инфекции, при лабораторном обследовании – ИДС 2–3 степени, ВНК ВИЧ 10 000 коп./мл и выше. Количество CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов у женщин с вертикальной трансмиссией ЦМВ было более низким (Ме 0,3×10⁹/л, ИКИ 0,24–0,36×10⁹/л), чем у остальных пациенток (Ме 0,4×10⁹/л, ИКИ 0,34–0,46×10⁹/л; p<0,05). Уровень ВНК ВИЧ в этой группе, напротив, был более высоким (Ме 110 000 коп./мл, ИКИ 10 700–113 000 коп./мл и Ме 70 000 коп./мл, ИКИ 67 000–73 000 коп./мл, соответственно; p<0,05). Медиана значения показателя КП IgG-антител против ЦМВ в группах женщин с вертикальной трансмиссией ЦМВ (8,0 ед.; ИКИ 7,4–8,6 ед.) и без нее достоверно не различались (7,0 ед.; ИКИ 6,2–7,8 ед.; p>0,05).

У 27% женщин настоящая беременность была первой, у 39% – второй или третьей, 36% – четвертой и более по счету. Медицинский аборт предшествовал настоящей беременности у 37% женщин, роды – у 31%, выкидыш – у 7%. У 70% женщин во время беременности выявлена анемия, у 45% – хроническая внутриутробная гипоксия плода, у 37% – гестоз первой и второй половин беременности, у 34% – синдром задержки развития плода, у 31% – угроза прерывания беременности, у 31% – гестационный пиелонефрит, у 18% – аномальное положение плода, у 6% – хорионамнионит. У 15% женщин роды начались преждевременно. У 33% женщин в родах имел место длительный безводный период, у 9% – сокращение продолжительности родового акта, у 11% – инвазивное ведение родов (эпизиотомия, перинеотомия, наложение выходных щипцов).

У женщин с вертикальной трансмиссией ЦМВ настоящая беременность чаще была четвертой и более по счету (табл. 2). У подавляющего большинства пациенток ей предшествовал медицинский аборт. Во время беременности у женщин данной группы достоверно чаще диагностированы угроза прерывания беременности и задержка развития плода, во время родов – длительный безводный период.

Факторы риска, достоверно различавшиеся между группами, были тестированы в однофакторной модели логистической регрессии (табл. 3). В связи с тем, что все предикторы продемонстрировали статистическую значимость, на следующем этапе исследования они были включены в многофакторную модель. Результаты анализа показали, что независимыми предикторами вертикальной передачи ЦМВ ребенку являлись стадия вторичных заболеваний 4, ИДС 2–3 степени и угроза прерывания беременности.

Таблица 3

**Независимые материнские предикторы развития внутриутробной ЦМВИ у детей
ВИЧ-инфицированных женщин**

Факторы риска	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
	ОШ	95% ДИ	p	ОШ	95% ДИ	p
<i>Состояние здоровья</i>						
Возраст старше 30 лет	3,7	1,3 – 10,7	0,015	1,4	0,2 – 10,3	0,701
Наркомания	3,4	1,1 – 12,7	0,049	1,1	0,1 – 9,4	0,821
Хронический метроэндометрит	11,6	1,5 – 90	0,019	0,8	0,3 – 15,9	0,885
Хронический кольпит	8,8	1,5 – 25,4	0,025	2,1	0,4 – 8,1	0,482
<i>ВИЧ-статус</i>						
Стадия 4	17,4	4,9 – 61,2	0,001	14,5	1,7 – 121,9	0,013
Гепатомегалия	4,8	2,5 – 16,6	0,031	1,4	0,6 – 3,9	0,678
ИДС 2 – 3 степени	19	2,4 – 147,9	0,004	34,4	2,9 – 398,1	0,004
ВНК ВИЧ 10 000 коп./мл и выше	2,7	2,3 – 12,7	0,025	1,2	0,3 – 12,3	0,722
<i>Особенности течения беременности</i>						
Беременность 4-я и более	6,1	1,4 – 30,6	0,024	1,2	0,5 – 4,7	0,429
Предшествующий медицинский аборт	7,3	1,6 – 32,9	0,010	6,2	0,4 – 93,7	0,191
Угроза прерывания беременности	19,6	4,3 – 89,1	0,001	8,1	1,3 – 50,9	0,026
Задержка развития плода	6,3	2,2 – 18,1	0,001	3,2	0,7 – 15,4	0,139
<i>Патология периода родов</i>						
Длительный безводный период	3,2	1,2 – 10,8	0,044	1,5	0,5 – 4,1	0,452

Обследование родившихся детей выявило клинико-лабораторные признаки внутриутробной ЦМВИ у 20 пациентов. Острая форма диагностирована у 5 больных (25%), хроническая активная форма – у 13 (65%), латентная – у 2 пациентов (10%). У большинства детей с внутриутробной ЦМВИ при клиническом обследовании обнаружена тяжелая полиорганная патология, обусловленная репликацией вируса и присоединением смешанной инфекции. Перинатальное поражение ЦНС выявлено у 80% больных, гепатомегалия – у 70%, задержка внутриутробного развития – у 65%, генерализованная лимфаденопатия – у 65%, анемия – у 60%, пневмония – у 55%, врожденные пороки развития сердца, почек, костно-мышечной системы – у 50%, затяжная желтуха продолжительностью более одного месяца – у 45%, энтероколит – у 25%, паренхиматозный гепатит – у 20%, нефрит – у 15%, спленомегалия – у 5%, катаракта – у 5%, хориоретинит – у 5%. У 90% детей этой группы имели место инфекционные заболевания органов дыхания, пищеварения, зрения, центральной нервной и мочевыделительной систем. В группе детей без внутриутробной ЦМВИ (82 человека) перинатальное поражение ЦНС обнаружено у 42%, гепатомегалия – у 9%, задержка внутриутробного развития – у 15%, генерализованная лимфадено-

патия – у 15%, анемия – у 56%, пневмония – у 2%, врожденные пороки развития – у 12%, затяжная желтуха – у 22%, энтероколит – у 6%, паренхиматозный гепатит – у 1%. У 60% пациентов данной группы выявляли инфекционный синдром.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что одним из значимых факторов, определяющих нарушение состояния здоровья детей с перинатальным контактом по ВИЧ, является внутриутробная ЦМВИ. Риск вертикальной трансмиссии ЦМВ у женщин с ВИЧ-инфекцией, как показало проведенное исследование, достигал 20% и был более высоким по сравнению с общепопуляционными показателями (0,3–3%) [6, 8]. Аналогичные данные были получены и другими исследователями [9]. Следует отметить, что, в отличие от детей женщин без ВИЧ-инфекции, у которых при рождении чаще имеет место латентная форма внутриутробной ЦМВИ, у подавляющего большинства детей с перинатальным контактом по ВИЧ заболевание протекало в клинически манифестной форме.

В связи с этим важное значение приобретает прогнозирование риска вертикальной трансмиссии ЦМВ у этой категории пациентов. Установлено, что независимыми предикторами являлись ИДС 2–3 степени, стадия вторичных заболева-

ний и угроза прерывания беременности у ВИЧ-инфицированной женщины. Роль указанных факторов риска в реализации вертикальной трансмиссии ЦМВ обусловлена, по-видимому, усилением репликации вируса и, с другой стороны, облегчением его прохождения через фетоплацентарный барьер. Наиболее высоким ОШ было для показателя «ИДС 2–3 степени», что объясняется нарушением контроля за репликацией ЦМВ со стороны иммунной системы [12]. Более низкое значение ОШ имели показатели «Стадии вторичных заболеваний» и «Угроза прерывания беременности». Известно, что оппортунистические инфекции, развивающиеся у пациентов в стадии вторичных заболеваний, являются кофакторами репликации ЦМВ, а угроза прерывания беременности повышает проницаемость фетоплацентарного барьера [11].

При изучении возможности использования для прогнозирования риска вертикальной трансмиссии ЦМВ указанных факторов риска по отдельности не выявило преимуществ для какого-либо одного предиктора. Так, показатель «ИДС 2–3 степени» при высоком уровне чувствительности (85%) имел низкую специфичность (37%). Показатели «Стадия вторичных заболеваний» и «Угроза прерывания беременности», напротив, характеризовались высокой специфичностью (95% и 74% соответственно) и низкой чувствительностью (30% и 55% соответственно). В связи с этим была изучена возможность одновременного применения всех трех предикторов. Установлено, что для варианта параллельного использования, при котором для положительного результата достаточно наличие хотя бы одного предиктора, характерен высокий уровень специфичности (97%) при низкой чувствительности (23%). Вариант последовательного использования, при котором положительным результат считают при наличии всех трех предикторов, продемонстрировал достаточно высокие показатели чувствительности (90%) и специфичности (90%), что позволяет рекомендовать его для применения в клинической практике.

С учетом высокой частоты и неблагоприятных последствий внутриутробной ЦМВИ для детей ВИЧ-инфицированных женщин необходимо проведение комплекса лечебно-профилактических мероприятий на прегравидарном и гравидарном этапах. До наступления беременности важное значение имеет своевременная диагностика ЦМВИ у женщин детородного возраста с ВИЧ-инфекцией с использованием современных методов прямой детекции возбудителя (ПЦР) и специфических антител (ИФА) [9]. При выявлении клинико-лабораторных маркеров активности ЦМВИ назначают комплексное этиотропное и патогенетическое лечение с использованием аномальных

нуклеозидов (ганцикловир), внутривенных иммуноглобулинов (неоцитотект) и др. [6–8]. Планирование беременности возможно через 6–24 месяца после достижения стойкой клинико-лабораторной ремиссии. По показаниям назначают высокоактивную антиретровирусную терапию, позволяющую улучшить состояние иммунного статуса и восстановить контроль за репликацией ЦМВ [12]. Проводят лечение оппортунистических инфекций, хронической гинекологической патологии, наркомании, осуществляют консультирование по вопросам планирования беременности.

При постановке на учет по поводу беременности у ВИЧ-инфицированной женщины с ЦМВИ необходимо оценить риск вертикальной трансмиссии ЦМВ. При наличии стадии вторичных заболеваний, ИДС 2–3 степени, угрозы прерывания беременности риск внутриутробной ЦМВИ у ребенка расценивают как высокий. Эти женщины нуждаются в углубленном клинико-лабораторном обследовании с использованием методов детекции ЦМВ в различных биологических субстратах и специфических антител. При обнаружении показателей активности инфекционного процесса проводят этиотропное и патогенетическое лечение с использованием препаратов, разрешенных для применения у беременных. Назначают профилактику вертикальной передачи ВИЧ по схемам высокоактивной антиретровирусной терапии, проводят лечение оппортунистических инфекций, патологии периода беременности. Проведение указанного комплекса профилактических и лечебных мероприятий позволит избежать неблагоприятных последствий внутриутробной ЦМВИ у детей с перинатальным контактом по ВИЧ.

Заключение

Риск развития внутриутробной ЦМВИ у детей с перинатальным контактом по ВИЧ превышает общепопуляционные показатели и составляет 20%. У подавляющего большинства детей (90%) заболевание протекает в клинически манифестной форме с формированием тяжелой полиорганной патологии. Независимыми предикторами вертикальной трансмиссии ЦМВ у ВИЧ-инфицированных женщин являются ИДС 2–3 степени, стадия вторичных заболеваний и угроза прерывания беременности. Чувствительность и специфичность прогнозирования риска вертикальной трансмиссии цитомегаловируса при наличии одновременно всех трех предикторов составляют 90%. Для предотвращения неблагоприятных последствий внутриутробной ЦМВИ у детей ВИЧ-инфицированных женщин необходима реализация комплекса лечебных и профилактических мероприятий на прегравидарном и гравидарном этапах.

Литература

1. Покровский, В.В. ВИЧ/СПИД в России: ситуация и прогноз / В.В. Покровский // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2008. — № 3. — С. 4–7.
2. Садовникова, В.Н. Особенности заболеваемости ВИЧ-инфекцией у детей и меры по профилактике перинатальной трансмиссии ВИЧ-инфекции / В.Н. Садовникова // Педиатрия. — 2010. — № 1. — С. 14–20.
3. Варাপетова, Н.В. Актуальные проблемы профилактики передачи ВИЧ от матери ребенку / Н.В. Варাপетова, Н.В. Карпушкина, Т.А. Епоян. — М., 2011. — 55 с.
4. Кабакова, Н.В. Формирование здоровья детей, рожденных от ВИЧ-инфицированных матерей: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.В. Кабакова. — Самара, 2007. — 24 с.
5. Textbook of pediatric HIV care / S. Zeichner [et al.]. — Cambridge, 2005. — 784 p.
6. Цинзерлинг, В.А. Перинатальные инфекции: вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинкоморфологические сопоставления / В.А. Цинзерлинг, В.Ф. Мельникова. — СПб.: Элби-СПб, 2002. — 352 с.
7. Фризе, К. Инфекционные заболевания беременных и новорожденных / К. Фризе, В. Кахель. — М.: Медицина, 2003. — 424 с.
8. Сидорова, И.С. Внутриутробные инфекции / И.С. Сидорова, И.О. Макаров, Н.А. Матвиенко. — М.: МИА, 2006. — 176 с.
9. Значение лабораторных маркеров активной репликации цитомегаловируса у ВИЧ-инфицированных беременных женщин при оценке риска врожденной и внутриутробной цитомегаловирусной инфекции / В.И. Шахгильдян [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2004. — № 4. — С. 30–34.
10. Влияние ВИЧ-инфекции матерей на течение и исходы внутриутробной цитомегаловирусной инфекции / Э.Н. Симованьян [и др.] // Инфекционные болезни. — 2009. — № 4. — С. 8–11.
11. Вирус иммунодефицита человека — медицина / Н.А. Белякова [и др.]. — СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2012. — 656 с.
12. Бартлетт, Дж. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции. 2012 / Дж. Бартлетт, Дж. Галлант, П. Фам. — М.: Р. Валент, 2012. — 528 с.
13. Вертикальная передача ВИЧ-инфекции в Российской Федерации / Н.В. Козырина [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2008. — № 3. — С. 24–28.
14. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение / В.В. Покровский [и др.]. — М.: Геотар-Медицина, 2004. — 496 с.
15. Кельмансон, И.А. Принципы доказательной педиатрии / И.А. Кельмансон. — СПб.: Фолиант, 2004. — 240 с.

Авторский коллектив:

Денисенко Валентин Борисович — ассистент кафедры детских инфекционных болезней Ростовского государственного медицинского университета, к.м.н.; тел.: 8(863)232-73-58, e-mail: dvalentinb@gmail.com

Симованьян Эмма Никитична — заведующая кафедрой детских инфекционных болезней Ростовского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор; тел.: 8(863) 32-73-58, e-mail: detinfrostov@gmail.com

Пушкарная Виктория Валериевна — ординатор кафедры детских инфекционных болезней Ростовского государственного медицинского университета; тел.: 8(863)232-73-58, e-mail: detinfrostov@gmail.com

ИММУНО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛИХОРАДКИ У ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЬНЫХ

К.В. Жданов, М.В. Яременко, Ю.П. Финогеев, С.М. Захаренко
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Clinical and pathogenetic aspects of fever in patients with infectious diseases

K.V. Zhdanov, M.V. Yaremenko, Yu.P. Finogeev, S.M. Zakharenko
Military Medical Academy named after S.M. Kirov, Saint-Petersburg

Резюме. О диагностическом значении лихорадки у инфекционных больных врачи знали со времен Гипократа. Большой вклад в ее изучение внесли С. Libermeister, С.П. Боткин, А.А. Остроумов, И.П. Павлов, И.И. Мечников и др.

Основным центром терморегуляции является гипоталамус. Выделяют три источника температурной рецепции — терморецепторы кожи, термочувствительные интерорецепторы и специфические термочувствительные нейроны ЦНС (нейроны ядер переднего, среднего и заднего гипоталамуса). Терморецепторами кожи и термальными интерорецепторами являются каналы с транзитным рецепторным потенциалом (temperature-sensitive transient receptor potential (TRP) channels) свободных нервных окончаний, например, блуждающего нерва.

Современные экспериментальные исследования показывают, что существует несколько путей инициации лихорадки. Основной классический путь развития лихорадки связан с повышением синтеза простагландинов под действием эндогенных пирогенов. К эндогенным пирогенам относят ряд цитокинов: интерлейкин-1 (ИЛ-1); интерлейкин-6 (ИЛ-6); фактор некроза опухолей альфа (ФНО-α); интерферон (ИФН). Основным вторичным пирогеном принято считать ИЛ-1β. Синтез ИЛ-1β стимулируется структурами PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) и DAMPs (danger-associated molecular patterns), зависит от активации каспазы 1 инфламмасомой.

Состояние терморегуляции и сегодня оценивается термометрией. Основоположником клинической термометрии является немецкий врач С. Wunderlich. За рубежом «золотым стандартом» является измерение ректальной температуры тела как наиболее стабильной и надежной. В нашей стране на практике, как правило, измеряют подмышечную температуру тела.

По типам лихорадки и температурным кривым у инфекционных больных можно предварительно определить нозологическую форму инфекционного заболевания. Среди инфекционных заболеваний есть наиболее типичные, а иногда почти патогномичные (малярия) для той или иной нозологической формы температурные реакции.

Ключевые слова: лихорадка, терморегуляция, температура тела, терморецепторы, пирогены, инфекционный больной, температурная кривая.

Abstract. About diagnostic value of fever, in infectious patients physicians knew from the time of Hippocrates. Significant contribution to the study made by S. Libermeister, SP Botkin, AA Ostroumov, IP Pavlov, II Metchnikoff and others.

The main center of thermoregulation is the hypothalamus. There are three sources of temperature reception — thermoreceptors of the skin, thermosensitive of interoreceptors and specific thermosensitive neurons of the CNS (neurons nucleus anterior, middle and posterior hypothalamus). Thermoreceptors of the skin and thermal of interoreceptors are channels with transient receptor potential (temperature-sensitive transient receptor potential (TRP) channels) of the free nerve endings, such as the vagus nerve.

Current experimental studies show that there are several ways to initiate fever. The main classical pathway of fever is associated with increased prostaglandin synthesis by the action of endogenous pyrogens. Endogenous pyrogens include a number of cytokines: interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF-α); interferon (IFN). The main secondary pyrogen is considered to be IL-1β. Synthesis of IL-1β stimulated structures PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) and DAMRs (danger-associated molecular patterns), depends on the activation of caspase — 1 with inflammasom.

The state of thermoregulation and is now estimated thermometry. The founder of the clinical thermometer is a German physician C. Wunderlich. Abroad, the «gold standard» is a measurement of rectal body temperature, as the most stable and reliable. In our country, in practice, usually measured axillary body temperature.

According to the types of fever and temperature curves infectious diseases can pre-define nosological form of infectious disease. Among infectious diseases are most common, and sometimes almost pathognomonic (malaria), for a given nosological form of the reaction temperature.

Key words: fever, thermoregulation, body temperature, thermoreceptors, pyrogens, infectious diseases, the temperature curve.

Введение

Лихорадка (febris), наряду с синдромом экзантемы, — самый яркий признак инфекционного заболевания. Понимание механизмов развития лихорадки помогает врачу предположить истинный диагноз больного. Проникновение в кровь возбудителя, продуктов его жизнедеятельности и распада является ключевым фактором повышения температуры внутренней среды (возникновения лихорадки) у инфекционного больного.

Недооценка синдрома общей инфекционной интоксикации и лихорадки зачастую приводит к поздней диагностике инфекционного заболевания и, как следствие, влияет на исход болезни. Адекватная оценка этих синдромов, полное обследование больного, правильное планирование диагностических исследований позволяют уже в начальном периоде заболевания установить верный диагноз.

Лихорадка с давних времен считалась одним из основных признаков моровых (инфекционных) болезней. Если во времена Гиппократов изучение лихорадки в основном носило описательный характер, то в XVIII в. появляются научные труды о лихорадке. В 1735 г. всемирно известный шведский естествоиспытатель, ботаник, врач Карл Линней защитил диссертацию на тему: «О лихорадке» [1]. Вплоть до середины XIX в. многие инфекционные болезни носили название «лихорадок» и «горячек». В XIX в. зарубежными и отечественными клиницистами проводилось детальное описание ряда инфекционных болезней. Например, в 1829 г. Шарль Луи дал весьма подробное описание клинической картины брюшного тифа. В лекциях С.П. Боткина и А.А. Остроумова давалась четкая клиническая характеристика брюшного, сыпного и возвратного тифов, ранее относящихся к группе «горячечных болезней» [2]. В этот период С. Libermeister (1875) выдвинул теорию, согласно которой пирогенные агенты изменяют регуляцию T° тела гомойотермного организма с установкой ее на новый, более высокий уровень. С. Libermeister впервые высказал предположение, что в организме тепло задерживается вследствие усиления теплопроизводства при отсутствии адекватного увеличения теплоотдачи. С. Libermeister, С.П. Боткин, И.П. Павлов и др. высказывали гипотезы о существовании нервных центров регуляции теплообмена, изменение активности которых под влиянием пирогенов приводило к развитию лихорадки [3, 4, 5]. Нобелевский лауреат И.П. Павлов в 1887 г. в своей лекции «Нервные теплотные центры и их участие в лихорадке» писал: «Жизнь есть сложный химический процесс. А так как теплота есть один из существенных агентов химических реакций, то понятно, что ход, энергия жизненного процесса должны в

высшей степени зависеть от теплоты» [6]. Другой нобелевский лауреат И.И. Мечников оценивал лихорадку как защитную реакцию: «Воспаление, лейкоцитоз и повышение температуры составляют рука об руку идущие три момента, противодействующие бактериям в случае их нашествия на организм» [7]. Взгляды И.И. Мечникова разделял профессор кафедры инфекционных болезней Военно-медицинской академии Н.Я. Чистович, он установил закон обратной зависимости между вирулентностью возбудителя и тяжестью инфекции с одной стороны, и силой фагоцитарной реакции — с другой [8]. В 1902 г. сотрудники кафедры патофизиологии Военно-медицинской академии А.А. Лихачев и П.П. Авроров, применив калориметр системы академика В.В. Пашутина, в исследованиях лихорадящих больных показали, что повышение общего уровня обмена и теплопроизводства при лихорадке не так значительны и постоянны, чтобы обеспечить имевшийся подъем температуры у больных [5, 7]. Например, во время приступа малярии теплопроизводство увеличивается на 63%, а температура повышается до 40°C. Между тем даже при умеренной мышечной работе теплопродукция возрастает на 100–200%, а температура меняется незначительно (на десятые доли градуса) вследствие адекватного прироста теплоотдачи [7].

Существует несколько определений лихорадки, подчеркивающих, с одной стороны, физиологический ее характер, с другой — сложность и многоуровневость ее развития. Так, в книге «Врачу о лихорадке» [5] лихорадка описывается как типовая реакция высших гомойотермных животных и человека на пирогенные вещества, которая характеризуется повышением температуры внутренней среды организма.

В «Энциклопедическом словаре медицинских терминов» под редакцией академика В.И. Покровского (2001 г.) лихорадка определяется как защитно-приспособительная реакция организма, возникающая в ответ на действие патогенных раздражителей и выражающаяся в перестройке терморегуляции на поддержание более высокого, чем в норме, уровня теплосодержания и температуры тела [9].

В руководстве по патофизиологии под редакцией профессора В.Ю. Шанина (2005 г.) лихорадка оценивается как защитная реакция теплокровных животных, которая через повышение температуры внутренней среды и цитозоля клеток усиливает реакцию системы иммунитета в ответ на экзо- и эндогенную антигенную стимуляцию и действие других стимулов при инфекциях, злокачественном клеточном росте и некробиотических изменениях собственных тканей организма [10].

Таким образом, к настоящему времени произошли существенные изменения во взглядах ученых на лихорадку. От простого описания важного диагностического признака мы пришли к пониманию физиологического характера этой реакции у инфекционного больного, сложно организованной многоуровневой регуляции температурного гомеостаза и потенциальным возможностям эффективного управления лихорадочной реакцией.

Регуляция системы температурного гомеостаза человека

Система терморегуляции человека функционирует по принципу отрицательной обратной связи между периферическими рецепторами и центральным управляющим звеном. Выделяют три зоны температурной рецепции — терморецепторы кожи, термочувствительные интерорецепторы и специфические термочувствительные нейроны ЦНС [11, 12, 13]. Кожные терморецепторы, согласно их реакции на температурное воздействие, классифицируются на холодовые и тепловые, они имеют существенные различия как в распределении, так и в строении и механизме активации. Терморецепторы, как и механорецепторы в коже, способны к адаптации к длительным стимулам. Холодовые рецепторы располагаются на глубине 0,17 мм от поверхности кожи, их около 250 тысяч. Тепловые рецепторы находятся почти в два раза глубже — 0,3 мм от поверхности, их примерно 30 тысяч. Импульсы от холодовых рецепторов проводятся демиелинизированными А- и С-волоками, а от тепловых рецепторов — демиелинизированными С-волоками [11, 13]. Оптимальная температура, при которой проводятся импульсы от холодовых рецепторов, составляет 18,8–28,8°C, а от тепловых рецепторов — 25,8–52,8°C. В А- и С-волокнах обнаружено шесть термочувствительных каналов с транзитным рецепторным потенциалом (temperature-sensitive transient receptor potential (TRP) channels). В коже находятся преимущественно TRPV1, TRPV3. **TRP — это ионные каналы, работа которых регулируется потенциалом напряжения.** Агонисты этих каналов ваниллоиды, вызывая депорализацию мембраны, открывают TRP для поглощения ионов Ca^{2+} и Na^{+} . Чувствительность теплового рецептора зависит от притока ионов кальция, а чувствительность холодовых рецепторов зависит от притока ионов натрия. Эти рецепторы находятся как бы в переходном состоянии, зависящем от частоты импульса. При холодовых ощущениях частота импульса снижается, а при тепловых — увеличивается [13]. В литературе хорошо описаны четыре так называемых TRPV1–TRPV4 (transient receptor potential vanilloid) рецептора, агонистами которых являются ваниллоиды (капсаицин и капсаициноиды) [14, 15].

Термочувствительные интерорецепторы, относящиеся, как и кожные, к периферическим рецепторам, находятся и во внутренних органах, в частности, в желудке, кишечнике, матке, мочевом пузыре, дыхательных путях, слизистых, роговице глаза, скелетных мышцах, кровеносных сосудах (артерии, аортальные и каротидные зоны, крупные вены и др.), коре больших полушарий, спинном мозге, ретикулярной формации среднем мозге, гипоталамусе. Термочувствительные интерорецепторы — это вышеупомянутые каналы с транзитным рецепторным потенциалом (TRP), расположенные в свободных нервных окончаниях, например, блуждающего нерва внутренних органов. Также известна роль TRPV1-4 как **термальных интерорецепторов**. В то же время в висцеральной терморецепции принимают участие и другие TRP, например TRPM8 и TRPA1 [14, 15]. Наличие внутренних терморецепторов является связующим звеном в регуляции температуры ядра тела [11, 13, 16].

Термочувствительные нейроны, которые обнаружены в ЦНС, — третья, особая группа термочувствительных элементов организма. Гипоталамус выполняет функции основного регулятора температуры. Функции модуляторов афферентных и эфферентных сигналов осуществляют другие отделы ЦНС (ретикулярная формация, гиппокамп, миндалевидное ядро, кора больших полушарий, спинной мозг) [11, 16].

Терморегуляция осуществляется при комплексном участии ядер переднего, среднего и заднего гипоталамуса, преимущественно в преоптической области дорсомедиальных и вентромедиальных ядрах. Термочувствительные нейроны подразделяются на нейроны термостата, установочной точки, теплоотдачи и теплопродукции. Установочная точка температурного гомеостаза — это та температура самого гипоталамуса, при которой теплопродукция и теплоотдача в организме уравновешены. Нормальное положение точки приблизительно равно 37,1°C. Как будет представлено далее, внеклеточный натрий «сдвигает» эталонную точку вверх, а внутриклеточный кальций — вниз. Нейроны термостата воспринимают информацию о температуре тела через периферические рецепторы и передают ее нейронам установочной точки. Последние сравнивают поступившую информацию с нормой и передают импульсы нейронам центра теплоотдачи и центра теплопродукции. В норме при снижении температуры тела происходит усиление теплопродукции, а при увеличении — усиление теплоотдачи [4, 5, 16].

Температурный гомеостаз основывается на динамическом равновесии скорости теплопродукции

(термогенез) и скорости теплоотдачи. Термогенез делится на облигатный и факультативный. Облигатный термогенез обусловлен интенсивностью основного обмена на 60–75% от общего расхода суточной энергии, приемом пищи (образуемые при переваривании пищи каждые 159 ккал увеличивают температуру ядра приблизительно на 0,01 °C), физической деятельностью (сон, бодрствование, смена поз, ходьба и др.). Факультативный термогенез обусловлен интенсивностью занятий спортом и другими физическими нагрузками, дрожью (основной источник теплообразования при охлаждении). К факультативному термогенезу относится и продукция тепла, зависящая от гуморальных факторов. Гуморальный термогенез обусловлен образованием тепла при разобщении окислительного фосфорилирования, при липолизе бурой и белой жировой ткани, а также активацией метаболических процессов при непосредственном участии норадреналина, адреналина, глюкагона, инсулина, тироксина, гормона роста, адренокортикотропного гормона, тестостерона и дегидроэпиандростерона [13].

Теплоотдача складывается как сумма потерь тепла через термооболочку несколькими путями [11, 12, 16]:

- Излучение (radiatio) инфракрасных лучей обеспечивает при комнатной температуре 60% тепловых потерь и зависит от температуры кожи. При температуре окружающей среды выше температуры тела тепловые потери путём излучения затруднены.

- Теплопроводность (conductio) обеспечивает переход тепла от более нагретого тела к более холодному при прямом контакте, скорость теплоотдачи при этом измеряется как линейная функция разности температур тел. Потери тепла теплопроводностью зависят от площади соприкосновения тела со средой, а значит — от позы.

- Конвекция (convectio) обеспечивает замену воздуха или воды, прилегающих к телу, и позволяет продолжить выведение тепла путём теплопроводности. При наличии конвекции до 12% тепла теряется телом через теплопроводность. Тепловые потери путём теплопроводности и конвекции в воде происходят в несколько раз быстрее, чем в воздухе.

- Испарение (evaporatio) бывает неоощуемым и оощуемым. Неоощуемое испарение (perspiratio insensibilis) — испарение воды через слизистую дыхательных путей и эпителий кожного покрова. За сутки в норме через дыхательные пути испаряется 400 мл и через кожу 240 мл воды, при этом каждый грамм воды уносит 580 калорий тепла. При оощуемом испарении (perspiratio sensibilis) при комфортных условиях выделяется 400–500 мл пота.

- Тепловые потери с мочой и калом обеспечивают незначительную часть теплоотдачи. Температура свежевыпущенной мочи отражает температуру термического ядра организма.

Человек и высшие животные являются гомойотермными (эндотермными), то есть несмотря на изменения температуры внешней среды и воздействия других факторов, температура тела поддерживается на определённом уровне. Принято выделять ядро организма и его оболочку. Ядро составляют мозг, грудная, брюшная, тазовая полости, а так же ткани человеческого тела, расположенные на глубине 1 см и более от поверхности. В ядре организма температура жестко фиксирована в пределах 37° — т.е. ядро гомойотермно. Температура оболочки зависит от температуры окружающей среды — т.е. она пойкилотермна. Поэтому показателем повышения температуры тела служит температура ядра тела, которую можно измерить в подмышечной области, плотно прижав термометр плечом к туловищу, или в наружном слуховом проходе на расстоянии 2 мм от барабанной перепонки, а также в ротовой полости под языком, в пищеводе на уровне сердца и в прямой кишке примерно на глубине 15 см [5, 11, 16].

В современном виде терморегуляция, представленная К. Nakamura (2011), выглядит следующим образом (рис. 1) [17].

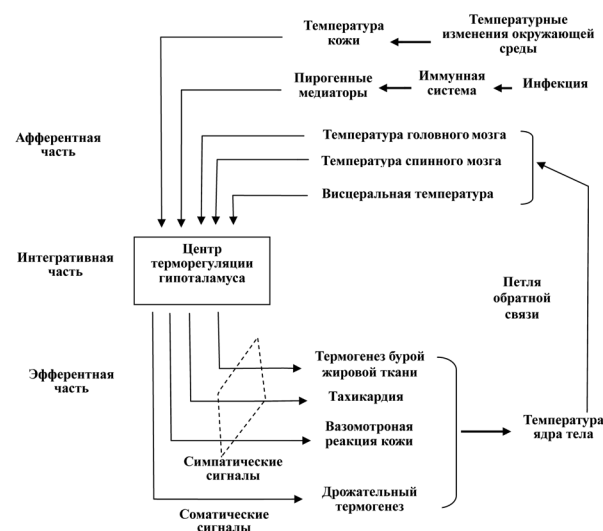


Рис. 1. Схема терморегуляции человека (K. Nakamura, 2011)

Элементами системы терморегуляции человека являются афферентная, интегративная и эфферентная части. Уточнение механизмов терморегуляции, особенностей функционирования рецепторов, способов теплоотдачи позволяет эффективно использовать физические методы воздействия при гипертермических состояниях.

Новые данные, полученные при изучении роли в генезе лихорадки неспецифических факторов иммунитета, экзогенных и эндогенных пирогенов и др., открывают новые горизонты в области не только теории, но и практического влияния на лихорадку у инфекционного больного.

Иммунологические аспекты лихорадки

Более 100 лет назад нобелевский лауреат И.И. Мечников подробно описал фагоцитоз и определил, что макрофаги играют ключевую роль в иммунной защите организма. Именно они первыми воспринимают чужеродные агенты [18]. По данным современных исследований, ведущую роль в восприятии сигналов опасности играют TLR (Toll-like receptors — **сигнальные трансмембранные рецепторы**) и NLR (NOD-like receptors — внутриклеточный цитозольный связывающий нуклеотид и олигомеризующий белок, домен белков) рецепторы макрофагов [19]. Семейство трансмембранных TLR-рецепторов насчитывает около 17 белков, а семейство внутриклеточных NLR — 20. Макрофаги имеют и другие рецепторы, играющие важную роль в развитии лихорадки, — CD 14, **рецепторы** цитокинов (интерлейкин-1, интерлейкин-6, фактор некроза опухолей), ионотропные рецепторы к внеклеточному АТФ (P2X7). Макрофаги присутствуют практически во всех тканях и первыми воспринимают сигналы чужеродных веществ, к которым относятся и пирогены [18–20].

По происхождению пирогенные (жаронесущие) вещества делят на экзогенные (бактериальные, небактериальные) и эндогенные (лейкоцитарные), по механизму действия — на первичные и вторичные. Первичные пирогены, проникая в организм, способствуют выработке вторичных (эндогенных) пирогенов [5, 10, 21].

Наиболее сильными и распространенными экзогенными пирогенами являются капсульные термостабильные липополисахариды (ЛПС) грам-отрицательных бактерий, которые составляют активное начало их эндотоксинов. На 50–60% молекула ЛПС состоит из фосфорилированного полисахарида, обращенного наружу. Стереотипное звено полисахаридной цепи в ЛПС повторяется несколько раз и в инфекционной иммунологии условно называется «О-антиген», так как распознается иммунной системой. Оставшиеся 30–40% составляет гидрофобный компонент (липид А), который взаимодействует с поверхностным рецептором CD14 на макрофагах, других антиген-представляющих клетках и гранулоцитах, вызывая их активацию и синтез эндогенных пирогенов [5, 22, 23]. Введение чистого синтетического липида А животным воспроизводит лихорадку, ответ острой фазы,

а при больших дозах — токсический шок. Грам-положительные бактерии и грибы являются источником термолабильных экзогенных пирогенов. Среди них — липотейхоевая кислота, фрагменты пептидогликанов (мурамоилпептиды, в частности, мурамоил-L-аланил-D-изоглутамин (MDP) [19], различные экзотоксины, например дифтерийный, стрептококковый или стафилококковые и др. [24, 25].

Некоторые токсины являются суперантигенами. Например, стафилококковый токсин синдрома токсического шока (TSST-1) является сильным стимулятором цитокинового каскада [19, 26, 27]. Описывались случаи тяжелого шока у женщин, использовавших сорбирующие тампоны в период менструаций. Причиной шока послужило размножение штаммов-продуцентов токсина TSST-1 золотистого стафилококка на тампонах, введенных во влагалище [28].

Вирусы, риккетсии и спирохеты не обладают липополисахаридами или экзо- и эндотоксинами, однако при попадании в макрофаги и взаимодействии с лимфоцитами активируют продукцию пирогенных цитокинов [5, 18]. Особенно активны в этом отношении вирусы, являющиеся поликлональными неспецифическими стимуляторами лимфоцитов, например, вирус Эпштейна — Барр и вирус герпеса.

Все вышеперечисленные экзогенные пирогены входят в так называемую группу патоген-ассоциированных молекулярных структур (PAMPs — pathogen-associated molecular patterns). Наряду с PAMPs, причиной лихорадки могут быть эндогенные молекулы, структуры, образующиеся при гибели клетки, тканевых повреждениях, опухолевых клетках, которые входят в так называемую группу DAMPs (danger-associated molecular patterns) [29, 30].

Примечательно, что повторное введение одного и того же экзогенного пирогена выявляет некоторую степень приобретённой толерантности к его действию, что нехарактерно для эндогенных пирогенов. Внутрицистернальное введение эндогенных пирогенов способно вызвать лихорадку наиболее быстро. В то же время экзогенные пирогены при прямом действии на нейроны гипоталамуса непирогенны [4, 21]. Структуры PAMPs и DAMPs, взаимодействуя с системой комплемента, TLR- и NLR-**рецепторами макрофагов**, активируют последние с последующим синтезом эндогенных пирогенов и простагландинов (PGE2) [29, 30].

Первым из эндогенных пирогенов, высвобождаемым активированными лейкоцитами, был описан в 1940-х гг. интерлейкин-1 (ИЛ-1). В последующем была доказана роль в развитии и регуляции лихорадки интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактора не-

кроза опухолей ФНО- α , интерлейкина-8 (ИЛ-8), макрофаг-воспалительных белков-1 β (MIP-1 β), интерферона- γ (ИФН- γ) [23, 27, 31]. Противостоят эндогенным пирогенам эндогенные жаропонижающие вещества (антипиретики), к которым относятся интерлейкин-10 (ИЛ-10), аргинин вазопресин (АВП), α -меланоцит-стимулирующий гормон (α -МСГ) и глюкокортикоиды [22, 32]. Важную роль в уменьшении синтеза ИЛ-1 β также играет его антагонист ИЛ-1RA.

Лихорадка является следствием каскада событий, опосредованных разнообразием химических и молекулярных взаимодействий биологически активных веществ между периферической иммунной системой и головным мозгом. Это многообразие взаимодействий представлено на схеме, предложенной L.R. Leon (2002) (рис. 2) [32].



Рис. 2. Схема развития лихорадки на инфекцию (L.R. Leon, 2002)

Анализируя результаты исследований на клонированных мышах, у которых не продуцировались определенные цитокины, в зависимости от условий эксперимента L.R. Leon (2002) пришел к выводу, что при низких дозах ЛПС происходит индукция лихорадки напрямую через ИЛ-6, а при высоких — через выработку ИЛ-1. При этом при высоких дозах ЛПС ФНО выступает в роли антипиретика (рис. 3) [32]. В ответ на низкие дозы ЛПС также синтезируется антипиретик ИЛ-10. На рисунке 3 штрихпунктирной стрелкой отображено подавляющее (жаропонижающее) действие и ФНО- α на лихорадку.

Существует несколько путей инициации лихорадки (рис. 4).

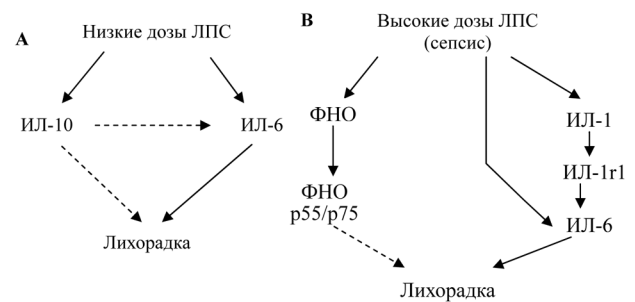


Рис. 3. Схема развития лихорадки при различных дозах ЛПС (L.R. Leon, 2002)

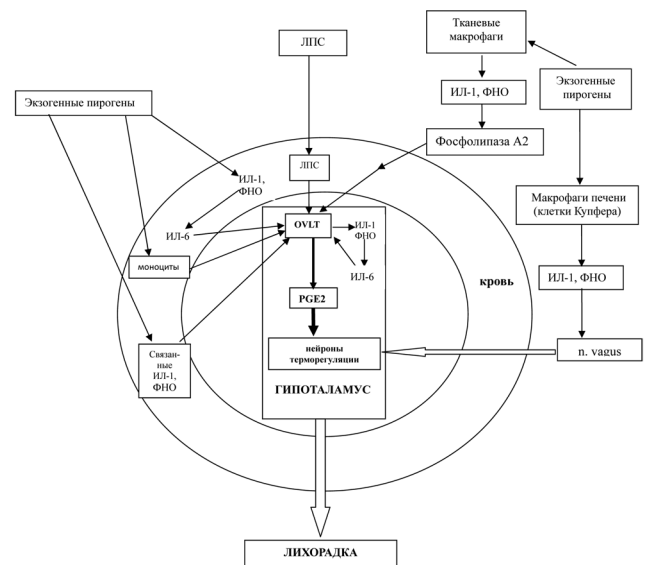


Рис. 4. Схема путей инициации лихорадки

1. Классический. При поступлении в кровь экзогенные пирогены стимулируют выработку лейкоцитами цитокинов ИЛ-1 и ФНО, которые индуцируют синтез ИЛ-6. Последний, достигнув эндотелия сосудистого органа пограничной пластинки ЦНС (один из так называемых циркумвентрикулярных органов — небольшой участок мозговой ткани, как бы вынесенный «за барьер») вызывает экспрессию индуцибельного фермента циклооксигеназы-2 (ЦОК-2) и активирует внутриклеточный фермент — фосфолипазу A₂ [33–35]. В результате образуется большое количество свободной арахидоновой кислоты, из которой при участии ЦОК-2 образуются простагландины, в частности, PGE2. Последний, преимущественно через подтип рецепторов EP3, связывается с нейронами и ингибирует фермент фосфодиэстеразу, разрушающую циклический 3', 5'-аденозинмонофосфат (цАМФ) [5, 36, 37]. цАМФ накапливается в нейронах гипоталамуса и изменяет содержание внутриклеточного кальция. Нейроны эталонного центра теряют кальций, отчего паттерн их импульсации меняется и они повышают установочную точку

температурного гомеостаза. Нормальная температура начинает восприниматься гипоталамусом как пониженная. Далее активируются симпатические центры, ограничивающие теплоотдачу и стимулирующие сократительный и несократительный термогенез. В итоге теплопродукция увеличивается, теплоотдача уменьшается и температура тела повышается [16, 23]. Из арахидоновой кислоты при участии монооксигеназы синтезируется цитохром P-450. При этом активация синтеза цитохрома P-450 приводит к снижению синтеза PGE₂, ИЛ-6 и снижению лихорадки [38].

2. При местном воздействии экзогенных пирогенов местная выработка макрофагами цитокинов (ИЛ-1, ФНО) инициирует секрецию фосфолипазы A₂, которая, достигнув эндотелия сосудистого органа пограничной пластинки ЦНС, участвует в образовании PGE₂, вызывая лихорадку.

3. При местном воздействии экзогенных пирогенов на макрофаги печени (клетки Купфера) последние секретируют ИЛ-1, который, в свою очередь, активирует капсаицин-чувствительные терминальные нервные волокна печени. Полученный сигнал через афферентные волокна блуждающего нерва передается норадренэргическим нейронам с выделением нореpineфрина, который индуцирует синтез PGE₂ в **сосудистом органе пограничной пластинки**. PGE₂, воздействуя на нейроны центра терморегуляции, вызывает лихорадку [24, 39, 40].

4. Экзогенные пирогены также могут активировать моноциты крови, которые, достигнув сосудистого органа пограничной пластинки, секретируют цитокины, вызывая синтез PGE₂ и **лихорадку** [23].

5. Экзогенные пирогены (ЛПС) напрямую, достигнув эндотелия сосудистого органа пограничной пластинки через **TLR-рецепторы (TLR4)**, инициируют продукцию ИЛ-1 и ФНО с последующим выделением ИЛ-6 и синтезом PGE₂, **вызывая лихорадку** [23, 41].

6. Экзогенные пирогены активируют моноциты, наряду с секретируемыми цитокинами (ИЛ-1β, ФНО), образуются связанные формы цитокинов (ИЛ-1α, ФНО) с мембраной моноцитов (макрофагов), которые при разрушении клеток (травма, дистресс-синдром, тяжелые формы инфекционных заболеваний), достигая эндотелия сосудистого органа пограничной пластинки, индуцируют синтез PGE₂ и лихорадку [23, 42 – 45].

В некоторых экспериментальных моделях показана роль сигнальных молекул **NO и СО в развитии лихорадки**. Через ЛПС и провоспалительные цитокины активируются NO-синтаза и гемоксигеназа, синтезируются NO и СО, последние путем увеличения концентрации цГМФ активируют нейроны центра терморегуляции [46].

Следует отметить, что, наряду с циркулирующими цитокинами, лихорадка может быть вызвана и другими путями. Например, при тяжелых инфекциях с септическим шоком провоспалительные цитокины обнаруживались только на короткое время в сравнении с периодом продолжительности лихорадки [25]. У больных сепсисом лихорадку может обуславливать бета-хемокин макрофагальный воспалительный белок-1-альфа (MIP-1 alfa — macrophage inflammatory protein-1 alfa). Причина лихорадки в этом случае не связана с активностью циклооксигеназы и требует дальнейшего изучения. Этот эндопироген также обладает способностью связываться с гепарином, что в сочетании с другими медиаторами воспаления может привести к нарушению системы гемостаза и развитию диссеминированного внутрисосудистого свертывания [10].

Ключевая роль в развитии лихорадки отводится интерлейкину-1 (ИЛ-1). ИЛ-1 является провоспалительным цитокином, стимулирующим локальный и системный иммунный ответ. ИЛ-1 система состоит из мембранного ИЛ-1α, растворимого ИЛ-1β, выделяемого при созревании, и трех изоформ: ИЛ 1Ra (рецепторный антагонист ИЛ-1 существует в виде секретируемой и трех внутриклеточных изоформ), внутриклеточные рецепторы двух типов ИЛ 1RI и ИЛ 1RII. ИЛ-1α в норме редко определяется в крови и других человеческих жидкостях [47 – 49]. Повышение его концентрации происходит при тяжелых заболеваниях, например, он может высвобождаться из гибнущих клеток. ИЛ-1β образуется из биологически неактивного про-ИЛ-1β с участием каспазы 1, активация которой регулируется мультимерным цитозольным белковым комплексом, называемым «инфламмасома» [29, 40, 50].

В 2002 г. F. Martinon et al. описали молекулярную платформу, необходимую для олигомеризации и активации провоспалительных протеаз (каспаз), которую называли инфламмасомой. Инфламмасомы сосредоточены в эндоплазматическом ретикулуле. На сегодняшний день описана структура NLRP1, NLRP3, IPAF и AIM2 инфламмасом. Это сложные мультибелковые структуры, состоящие из каспазы 1, адаптерного белка PYCARD (PYRIN-caspase recruitment domain, также известный как Apoptosis-associated Speck-like protein containing CARD, ASC) и сенсорного белка, принадлежащего к семейству NOD-подобных рецепторов (NOD-like receptor, NLR) [30, 50]. J. Tschopp et al., описавшие в 2002 г. инфламмасому NLRP3, раскрыли ее роль в формировании врожденного и приобретенного иммунитета, развитии метаболического синдрома, сахарного диабета 2-го типа [50]. В настоящее время широко изучается активация инфламмасом вирусами, бактериями и грибами. Инфламмасоме

NLRP3 придают огромное значение в развитии подагры, болезни Крона, семейной средиземноморской лихорадке и ряда других наследственных и аутоиммунных заболеваний. Итогом активации инфламмасы является образование и высвобождение ИЛ-1 β и ИЛ-18 (рис. 5) [29].

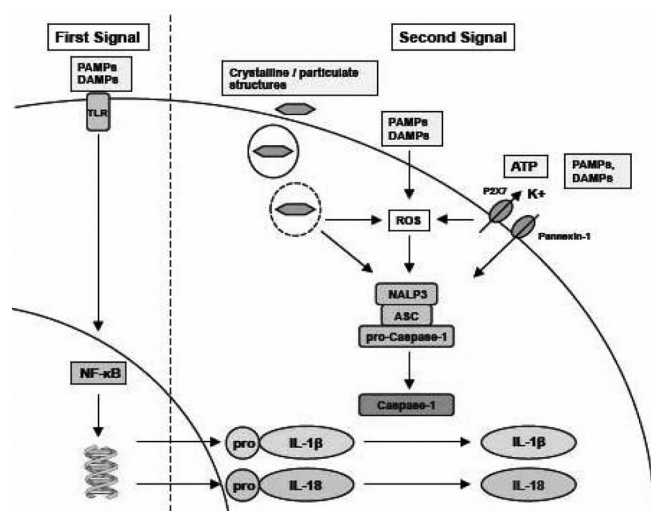


Рис. 5. Первый и второй сигналы активации инфламмасы (по D. Lissner и B. Sigmund, 2011)

Для высвобождения ИЛ-1 β из макрофагов необходимы два сигнала. Во-первых, активация TLR, приводящая к транскрипции и трансляции про-ИЛ-1 β . Во-вторых, NLR-индуцированный процессинг и высвобождение ИЛ-1 β через каспаз-1-зависимый механизм (активация инфламмасы). С одной стороны, структурами PAMPs (ЛПС, токсины, флагелины и др.), DAMPs (эндогенные молекулы) стимулируются TLR4- или TLR2-рецепторы макрофагов, присоединяются внутриклеточный белок адаптер MYD 88 (myeloid differentiation primary response gene 88), ИЛ 1R-ассоциированная киназа (IL 1R associated kinase, IRAK), ФНО рецептор-ассоциированный фактор 6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF 6), что приводит к активации NF- κ B (нуклеарный фактор), вызывающего экспрессию генов, ответственных за синтез про-ИЛ-1 β . С другой стороны, структуры PAMPs, DAMPs, кристаллические частицы, АТФ через P2X7 рецепторы, pannexin-1 каналы, путем образования внутриклеточных лизосом, посредством NLR рецепторов активируют инфламмасу и каспаз-1-зависимый механизм расщепления про-ИЛ-1 β с образованием ИЛ-1 β (см. рис. 5) [19, 29, 50]. Связывание одной молекулы ЛПС из грам-отрицательных бактерий может привести к синтезу приблизительно 10 000 молекул ИЛ-1 β , выделяемых макрофагами после активации TLR4. Синтезированный ИЛ-1 β биологически активен и является одним из основных эндогенных пирогенов. Следует отметить, что ИЛ-1 α ,

ИЛ-1 β вырабатываются не только фагоцитами, как считали раньше, но и эндотелиальными клетками, В-лимфоцитами, NK-лимфоцитами, фибробластами, гладкомышечными клетками, кератиноцитами и клетками глии [48].

В последние годы активно изучается роль многих бактерий и вирусов в активации инфламмасы, что должно позволить найти новые точки приложения в раскрытии патогенеза многих инфекционных заболеваний.

Таким образом, провоспалительные цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α , ИФН), наряду с другими многочисленными функциями, играют важную роль в развитии лихорадки. Изучение механизмов их секреции позволяет по-новому оценить роль антицитокиновой терапии, особенно при ряде аутовоспалительных заболеваний. Однако лихорадка может возникнуть и без участия циркулирующих цитокинов путем опосредованного (через блуждающий нерв) или прямого влияния ЛПС на центр терморегуляции, а также воздействия мембраносвязанных цитокинов (например, при сепсисе) на этот центр. Удельный вес альтернативных путей в развитии лихорадки требует дальнейшего изучения.

Яркий пример практического воплощения знаний иммунологии — это назначение при лихорадке ингибиторов ЦОК — нестероидных противовоспалительных средств (НПВС). Кроме НПВС, существуют и другие антипиретики. Одним из мощных антипиретиков являются глюкокортикоиды, ингибирующие синтез ИЛ-6 и ФНО- α . Кроме того, существуют препараты антицитокиновой терапии: анакинр (рекомбинантная, негликозилированная форма человеческого рецепторного антагониста ИЛ 1Ra), рилонацепт (димерный гибридный белок, состоящий из лиганд-связывающих доменов внеклеточной части рецепторов ИЛ 1RI и ИЛ 1RAcP, связанных с Fc-частью человеческого IgG1), канакинумаб (моноклональные антитела к ИЛ-1 β длительного действия), инфликсимаб (химерные моноклональные антитела к ФНО- α), цертолизумаб пэгол (Fab'-фрагмент молекулы IgG антител к ФНО- α , соединенный с полиэтиленгликолем (ПЭГ)) и др. Вышеуказанные препараты применяются для лечения аутовоспалительных заболеваний, например, семейной средиземноморской лихорадки, периодического синдрома, ассоциированного с рецептором 1 ФНО, гипер-IgD-синдром и др.

Понимание физиологических и иммунологических процессов терморегуляции, как подводная часть айсберга, неразрывно связано с ее надводной частью — клинической картиной заболевания.

Клиническое значение лихорадки

В давние времена каждая из лихорадок имела свое собственное название, связанное с теми муками, которые она доставляла человеку [51]:

1. Трясица (от глагола «трясти») — производящая тряску в организме.

2. Огня (огненная) — производящая внутренний жар («кого человека поймаю, тот разгорится, аки пламень в печи»).

3. Ледея (озноба, знобей, знобуха) — злобящая род людской, словно лед, и не позволяющая согреться даже у печи.

4. Гнетей — гнетет человека, вызывает у него рвоту, потерю аппетита.

5. Грудница — ущемляет грудь, вызывает хрипоту и харканье.

6. Глухей — ломит голову, закладывает уши.

7. Ломей (костоломка) — ломает кости и спину, «аки цвет в поле».

8. Пухней — пускает по телу опухоль.

9. Желтей — пускает по телу желтизну, «аки цвет в поле».

10. Коркуша (коркея) — корчит ручные и ножные жилы.

11. Глядей — не дает спать человеку, призывает к нему бесов во сне и сводит его с ума.

12. Невей (мертвящая) — проклятый удел старшей из сестер-лихорадок, приводящей к смерти человека.

Вплоть до середины XIX в. многие инфекционные болезни носили название «лихорадок» и «горячек». Под термином «лихорадка» понимали не повышение температуры тела, а чувство жара у больного с предшествующим ему ознобом. Во второй половине XIX в. в трудах отечественных и зарубежных врачей придавалось огромное значение измерению температуры тела больного. Основоположник клинической термометрии немецкий врач С. Wunderlich в результате кропотливой работы по измерению температуры тела человека в 1868 г. опубликовал свой научный труд «Das Verhalten der Eigenwärme in Krankheiten» (The Course of Temperature in Diseases) [22]. В этот же период в своей работе «Графическое выражение температурных величин при острых лихорадочных болезнях» отечественный клиницист профессор Ф.И. Пастернацкий отразил свои клинические наблюдения по измерению температуры тела у инфекционных больных [52]. С. Wunderlich в результате более одного миллиона измерений температуры тела у около 25 тыс. пациентов полагал, что при комфортных условиях нормальная для человека температура тела подмышечной области в среднем составляет 37°C (98,6°F) и колеблется в диапазоне 36,2°C (97,2°F) — 37,5°C (99,5°F) [35]. Он показал, что температура тела зависит от возраста, пола, состояния, деятельности пациента и времени суток. На современном этапе с внедрением более точных методов измерения температуры тела, наряду с результатами, полученными С. Wunderlich, было установлено, что

она имеет неравные значения в различных точках измерения (полость рта, наружный слуховой проход, подмышечная впадина, прямая кишка и др.). Для мужчин среднее значение и диапазон оральной температуры составляет 36,7°C (35,7–37,7°C), ректальной — 37,0°C (36,7–37,5°C), тимпанической — 36,5°C (35,5–37,5°C). Для женщин среднее значение и диапазон оральной температуры равны 36,2°C (33,2–38,1°C), ректальной — 37,0°C (36,8–37,1°C), тимпанической — 37,0°C (36,8–37,1°C). Среднее значение и диапазон аксиллярной температуры един для мужчин и женщин и составил 36,3°C (35,5–37,0°C). За рубежом «золотым стандартом» является измерение ректальной температуры как наиболее стабильной и надежной [53]. В нашей стране на практике, как правило, измеряют подмышечную температуру.

Следует отметить, что температура тела имеет суточный (циркадный) ритм. Так, наиболее низкий ее уровень определяется между 3 и 6 часами утра, а более высокий (акрофаза) между 16:00 и 21:00 часами [53]. Характерно, что суточный ритм сохраняется при лихорадке, но исчезает при перегреваниях [5, 22].

Наиболее детально лихорадка изучена при инфекционном процессе. В своем развитии лихорадка проходит три стадии [5, 7]: стадия повышения температуры (stadium incrementum); стадия «стояния» температуры на более высоком, чем в норме, уровне (stadium fastigium); стадия снижения температуры (stadium decrementum).

По длительности течения лихорадка может быть острой (до двух недель), подострой (до 6 недель) и хронической (свыше 6 недель).

Для практикующего врача клиническая интерпретация лихорадки имеет важное диагностическое значение. Прежде всего оценивают начало, выраженность, длительность лихорадки, тип температурной кривой, сроки появления и характер органических поражений, влияние лекарственных средств на лихорадку.

Начало лихорадки может быть различным. При остром начале лихорадки больные четко помнят день и даже час ее начала. Например, остро повышается температура тела при менингококковой инфекции, гриппе, малярии, лептоспирозе, орнитозе и др. При постепенном развитии лихорадки температура повышается в течение нескольких дней, например, при брюшном тифе, паратифах А и В.

По степени выраженности повышения температуры тела выделяют *субфебрильную* (не выше 37,9°C), *умеренную* (38,0–39,0°C), *высокую* (39,1–41,0°C) и *гипертермическую лихорадку* (более 41,0°C). Повышение температуры тела свыше 42°C может привести к летальному исходу. Как исключения описаны подъемы температуры до 44–45°C

(при столбняке) с последующим выздоровлением. Выраженность (высота) лихорадки имеет определённое диагностическое значение. Так, например, некоторые инфекционные болезни вообще протекают при нормальной температуре тела (холера, кожный лейшманиоз, лямблиоз, шистосомоз и др.). Для других характерен субфебрилитет (токсоплазмоз, ботулизм, парагрипп, риновирусная инфекция, краснуха и др.). Умеренная лихорадка присуща большинству инфекций (ангина, грипп, корь, рожа, сальмонеллёз, шигеллёз, эшерихиоз, тифы и др.). С высокой температурой тела протекают геморрагические лихорадки, жёлтая лихорадка, менингококковая инфекция, сепсис, сеп, а также лёгочные формы чумы, туляремии, сибирской язвы и др. [2, 54, 55].

Не менее важное значение, чем её высота, для дифференциальной диагностики имеет длительность лихорадки. При многих острых инфекционных болезнях лихорадка длится не более 5 сут (грипп и другие острые респираторные заболевания, ангина, дизентерия, дифтерия, коклюш, скарлатина, ветряная оспа, краснуха, сальмонеллёз и др.). Более длительная лихорадка (6–10 сут) свойственна пневмонии, инфекционному эндокардиту, лептоспирозу, псевдотуберкулёзу и кишечному иерсиниозу, инфекционному мононуклеозу, геморрагической лихорадке с почечным синдромом, трихинеллёзу и др. Реже встречаются инфекционные болезни с длительностью лихорадки до 20 сут — это возвратный, сыпной и брюшной тифы, паратифы А и В, бруцеллёз, орнитоз, малярия и др. Из неинфекционных заболеваний следует упомянуть ревматическую лихорадку. Наконец, очень мало инфекций с лихорадкой, продолжающейся более 20 сут (сепсис, СПИД и др.). Зато в этой группе широко представлены самые различные неинфекционные болезни: дерматомиозит, ревматоидный артрит, системная красная волчанка, узелковый периартериит, хронические гепатиты, панкреатиты и холециститы, туберкулёз, бронхоэктатическая болезнь, саркоидоз, опухоли, лейкозы и др. [54–56].

В клинической практике для многих инфекционных заболеваний характерны специфические особенности температурной кривой. Различают следующие типы лихорадки и температурных кривых при них: постоянная лихорадка (*febris continua*); послабляющая лихорадка (*febris remittens*); перемежающаяся лихорадка (*febris intermittens*); возвратная лихорадка (*febris recurrens*); волнообразная, или ундулирующая лихорадка (*febris undulans*); истощающая (изнуряющая) лихорадка (*febris hectica*); неправильная (атипичная) лихорадка (*febris irregularis seu atipica*). Помимо приведенных классических типов температурных кривых, профессор ВМА им. С.М. Кирова А.П. Казанцев

(1991) предложил выделять ещё два: острую волнообразную и рецидивирующую лихорадку [54, 55, 57].

Тип температурной кривой зависит от степени суточного колебания температуры тела (постоянная, послабляющая, перемежающаяся лихорадка), от чередования высоколихорадящих периодов с безлихорадочными (возвратная лихорадка), наличия циклических волн лихорадки (волнообразная лихорадка), длительного повышения больших суточных размахов температуры (истощающая лихорадка), нарушения суточного ритма повышения и спада температуры (неправильная лихорадка). Качественные и количественные характеристики типов температурных кривых хорошо изложены в учебниках и монографиях по инфекционным болезням [2, 5, 54]. Следует отметить, что тип температурной кривой играет существенную роль в постановке правильного диагноза. Например, для малярии характерна перемежающаяся лихорадка, для сепсиса и генерализованных инфекций — истощающая (изнуряющая) лихорадка, при брюшном тифе, паратифах — постоянная [54, 55, 58].

Важное диагностическое значение имеют сроки появления и характер развивающихся органических поражений. При некоторых болезнях интервал между началом лихорадки и появлением органических поражений составляет менее 24 ч (менингококковая инфекция, скарлатина, краснуха). При других заболеваниях этот период длится от 1 до 3 сут (ветряная оспа, корь) и, наконец, при ряде инфекций он превышает 3 сут (брюшной тиф, вирусный гепатит). Наиболее частыми органическими поражениями являются экзантема (корь, краснуха, скарлатина), диарея (шигеллёз, сальмонеллёз), тонзиллит (ангина, дифтерия, мононуклеоз), воспаление слизистых оболочек (грипп, ОРЗ), лимфаденопатия (токсоплазмоз, СПИД, болезнь кошачьей царапины), увеличение печени и селезёнки (вирусный гепатит, брюшной тиф) и поражение ЦНС (менингиты и энцефалиты) [54, 55, 58].

Оценка влияния на лихорадку лекарственных препаратов — один из важнейших диагностических приёмов. Так, при некоторых болезнях температура тела нормализуется быстро, уже в течение 24–48 ч после назначения этиотропного препарата. Такое действие оказывают тетрациклины при сыпном тифе, хлорохин при малярии (за исключением лекарственноустойчивых форм) и пенициллин при стрептококковых болезнях (ангина, рожа, скарлатина). Отсутствие такой динамики позволяет исключить эти болезни. Кроме того, для вирусных болезней характерна неэффективность антибиотикотерапии (диагностика *ex juvantibus*). Известна так называемая амидопириновая проба (или назначение анальгина), когда приём указанных препаратов приводит к кратковременному

снижению температуры тела у инфекционных больных (или при наличии какого-либо воспаления) и не оказывает никакого влияния на температуру тела при ряде неинфекционных болезней (тиреотоксикоз, коллагенозы) и др. [55].

Одной из особенностей лихорадки при инфекционных заболеваниях является разобщение механизмов, координирующих теплопродукцию и теплоотдачу, вследствие чего даже при относительно небольшом приросте теплопроизводства наблюдается перегрев организма больного. При этом эффективными против перегрева организма в ряде случаев могут быть физические методы охлаждения (применение пузыря со льдом и др.).

В то же время следует отметить, что температурный фактор, в свою очередь, и сам играет важную роль в течении ряда заболеваний. Так, еще в 1876 г. одесский врач-психиатр А.С. Розенблюм заметил, что состояние больных сифилисом улучшалось, когда они заболевали возвратным тифом [59]. Австрийский врач-психиатр Юлиус Вагнер-Яурегт в 1887 г. для лечения спинной сухотки заражал больных малярией и достигал хороших результатов, за что впоследствии получил Нобелевскую премию по физиологии и медицине «за открытие терапевтического эффекта заражения малярией при лечении прогрессивного паралича» [60]. Американский хирург W. Coley наблюдал регресс некоторых опухолей головы и шеи при лихорадке, связанной с рожей. Так, в 1893 г. в Нью-Йорке он впервые продемонстрировал эффект «коктейля Coley» (смесь энзимов гемолитического стрептококка стрептокиназы и стрептодорназы), который при парентеральном введении вызывал лихорадку и обратное развитие опухолей у некоторых больных [10]. Лечебное действие лихорадки лежит в основе применения высокоочищенных препаратов пирогенов (пирогенал и др.) и интерлейкина-1. Преимущество последнего по сравнению с пирогенами микробного происхождения состоит в том, что, способствуя развитию лихорадки, он не оказывает токсического действия [61].

Таким образом, приведенные в статье физиологические и иммунологические механизмы развития лихорадки неразрывно связаны с ее клиническими проявлениями. Понимание процессов развития лихорадки позволяет практическому врачу, с одной стороны, предположить более правильный диагноз, с другой — своевременно назначить комплексную патогенетическую терапию. Инфекционная болезнь может иметь несколько вариантов температурной кривой, однако среди них есть наиболее типичные, а иногда почти патогномичные (малярия) для той или иной нозологической формы температурные реакции. Поэтому практикующий врач должен правильно дать описание лихорадки инфекционного больного, что позволит

своевременно предположить наиболее верный диагноз и назначить правильное лечение.

Литература

1. Финогеев, Ю.П. Инфекционные болезни, лечение без химии / Ю.П. Финогеев [и др.]. — СПб.: Диля, 2009. — С. 4.
2. Лобзин, Ю.В. Учение об инфекционных болезнях / под ред. чл.-корр. РАМН проф. Ю.В. Лобзина // Инфекционные болезни : учебник для мед. вузов. — СПб.: СпецЛит, 2001. — С. 10–13.
3. Боткин, С.П. Разбор открытых исследований фактов / С.П. Боткин // Курс клиники внутренних болезней и клинические лекции. — М.: МЕДГИЗ, 1950. — Т. 1. Выпуск II. — С. 142–196.
4. Весёлкин, П.Н. Лихорадка (очерки по общей патологии терморегуляции и лихорадочной реакции) / П.Н. Весёлкин. — М.: Госиздат, 1963. — 376 с.
5. Марьянович, А.Т. Врачу о лихорадке / А.Т. Марьянович, В.Н. Цыган, Ю.В. Лобзин. — СПб.: ВМедА, 1999. — 120 с.
6. Павлов, И.П. Нервные теплотные центры и их участие в лихорадке / И.П. Павлов // Полное собрание сочинений. — М. — Л.: Издательство Акад. Наук СССР, 1951. — Т.1. — С. 494–524.
7. Ерзикина, Г.А. Лихорадка / Г.А. Ерзикина, А.Д. Адо, Л.М. Ишимова // Патологическая физиология. — М.: Медицина, 1980. — Раздел IX, гл. 2–3. — С. 182–193.
8. Жданов, К.В. Первая в России кафедра инфекционных болезней: от истоков к современности (к 115-летию кафедры инфекционных болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова) / К.В. Жданов [и др.] // Журнал инфектологии. — 2011. — Т. 3, № 4. — С. 5–17.
9. Покровский, В.И. Лихорадка геморрагическая / В.И. Покровский // Энциклопедический словарь медицинских терминов. — Изд. 2-е. — М.: Медицина, 2001. — С. 441.
10. Шанин, В.Ю. Лихорадка и реакция острой фазы / В.Ю. Шанин // Патологическая физиология. — СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2005. — Гл. 7. — С. 116–123.
11. Агаджанян, Н.А. Терморегуляция / Н.А. Агаджанян [и др.] // Физиология человека. — М.: Медицинская книга, 2009. — Гл. 22. — С. 302–316.
12. Lecroart, J.L. Thermoregulation / J.L. Lecroart, G. Dekunder. — Lille, 2001. — 96 p.
13. Van Someren, E.J.W. Circadian and age-related modulation of thermoreception and temperature regulation: mechanisms and functional implications / E.J.W. Van Someren [et al.] // Ageing Research Rev. — 2002. — V. 1. — P. 721–778.
14. Fajardo, O. TRPA1 Channels Mediate Cold Temperature Sensing in Mammalian Vagal Sensory Neurons: Pharmacological and Genetic Evidence / O. Fajardo [et al.] // J. Neurosci. — 2008. — V. 28, № 31. — P. 7863–7875.
15. Venkatachalam, K. TRP Channels / K. Venkatachalam, C. Montell // Ann. Rev. of Biochem. — 2007. — V. 76. — P. 387–417.
16. Брюк, К. Тепловой баланс и регуляция температуры тела / К. Брюк; под ред. Р. Шмидта и Г. Тевса // Физиология человека. — 3-е изд. — М.: Мир, 2007. — Т. 3, ч. VII, гл. 25. — С. 665–687.
17. Nakamura, K. Central circuitries for body temperature regulation and fever / K. Nakamura // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. — 2011. — V. 301. — P. R1207–R1228.
18. Mosser, D.M. Exploring the full spectrum of macrophage activation / D.M. Mosser, J.P. Edwards // Nat. Rev. Immunol. — 2008. — V. 8, № 12. — P. 958–969.

19. Мещерякова, Е.А. Сигнальные клеточные пути и белковые взаимодействия, индуцированные мурамоилпептидами / Е.А. Мещерякова, Т.М. Андропова, В.Т. Иванов // Биоорганическая химия. — 2010. — Т. 36, № 5. — С. 581–595.
20. Wewers, M.D. P2X7 receptor and macrophage function / M.D. Wewers, A. Sarkar // *Purinergic Signal.* — 2009. — V. 5, № 2. — P. 189–195.
21. Dinarello, C.A. Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: some concepts have changed / C.A. Dinarello // *J. Endotoxin Res.* — 2004. — № 10. — P. 201–222.
22. Mackowiak, P.A. Temperature regulation and the pathogenesis of fever / P.A. Mackowiak ; ed. by L. Gerald [et al.] // *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases.* — 2010. — V. 1, Part II. — P. 765–778.
23. Netea, M. G. Circulating Cytokines as Mediators of Fever / M.G. Netea, B.J. Kullberg, J.W.M. Van der Meer // *Clin. Infect. Dis.* — 2000. — V. 31, Suppl. 5. — P. S178–S184.
24. Oka, T. Mechanisms and Mediators of Psychological Stress-Induced Rise in Core Temperature / T. Oka [et al.] // *Psychosomatic Medicine.* — 2001. — V. 63 — P. 476–486.
25. Van Deuren, M. Differential expression of proinflammatory cytokines and their inhibitors during the course of meningococcal infections / M. Van Deuren [et al.] // *J. Infect. Dis.* — 1994. — V. 169. — P. 157–161.
26. Johannsen, L. Macrophages produce somnogenic and pyrogenic muramyl peptides during the digestion of staphylococci / L. Johannsen [et al.] // *Am. J. Physiol.* — 1991. — V. 260. — P. R126–R133.
27. Tavares, E. Circulating inflammatory mediators during start of fever in differential diagnosis of gram-negative and gram-positive infections in leukopenic rats / E. Tavares [et al.] // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* — 2005. — №. 12. — P. 1085–1093.
28. Покровский, В.И. Грамположительные кокки. Золотистый стафилококк (*S.aureus*) / В.И. Покровский // *Медицинская микробиология : учебное пособие.* — 4-е изд., стереот. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — С. 283–285.
29. Lissner, D. The Multifaceted Role of the Inflammasome in Inflammatory Bowel Diseases / D. Lissner, B. Siegmund // *The Scientific World JOURNAL.* — 2011. — V. 11. — P. 1536–1547.
30. Schroder, K. The Inflammasomes / K. Schroder, J. Tschopp // *Cell.* — 2010. — V. 0. — P. 821–832.
31. De Kleijn, E.M.H.A. Circulating and ex-vivo production of pyrogenic cytokines and interleukin-1 receptor antagonist in 123 patients with fever of unknown origin (FUO) / E.M.H.A. De Kleijn [et al.] // *J. Infect. Dis.* — 1997. — V. 175. — P. 191–195.
32. Leon, L.R. Invited Review: Cytokine regulation of fever: studies using gene knockout mice / L.R. Leon // *J. Appl. Physiol.* — 2002. — V. 2. — P. 2648–2655.
33. Chai, Z. Interleukin (IL)–6 gene expression in the central nervous system is necessary for fever response to lipopolysaccharide or IL-1b: a study on IL-6–deficient mice / Z. Chai [et al.] // *J. Exp. Med.* — 1996. — V. 183. — P. 311–316.
34. Dalal, S. Pathophysiology and Management of Fever / S. Dalal, D. S. Zhukovsky // *J. Support Oncol.* — 2006. — № 4. — P. 9–16.
35. Zetterstrom, M. Delineation of the proinflammatory cytokine cascade in fever induction / M. Zetterstrom [et al.] // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 1998. — V. 856. — P. 48–52.
36. Li, S. Cyclooxygenase-2 mediates the febrile response of mice to interleukin-1 beta / S. Li [et al.] // *Brain Res.* — 2001. — V. 10. — P. 163–173.
37. Tavares, E. Endotoxin fever in granulocytopenic rats: evidence that brain cyclooxygenase-2 is more important than circulating prostaglandin E2 / E. Tavares [et al.] // *J. Leukoc. Biol.* — 2006. — V. 80. — P. 1375–1387.
38. Kozak, W. Role of cytochrome P-450 in endogenous antipyresis / W. Kozak [et al.] // *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol. L.* — 2000. — V. 279. — P. R455–R460.
39. Romanovsky, A.A. The vagus nerve in the thermoregulatory response to systemic inflammation / A. A. Romanovsky [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 1997. — V. 273. — P. R407–R413.
40. Roth, J. Fever induction pathways: evidence from responses to systemic or local cytokine formation / J. Roth, G.E.P. de Souza // *Braz. J. Med. Biol. Res.* — 2001. — V. 34, № 3. — P. 301–314.
41. Dinarello, C.A. Fever and Hyperthermia / C.A. Dinarello, J. A. Gelfand ; ed. by E. Braunwald [et al.] // *Harrison's Principles of Internal Medicine.* — New York.: McGraw-Hill, 2001. — P. 91–94.
42. Dinarello, C.A. Biologic basis for interleukin-1 in disease / C.A. Dinarello // *Blood.* — 1996. — V. 87. — P. 2095–3147.
43. Grell, M. The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating factor of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor / M. Grell [et al.] // *Cell.* — 1995. — V. 83. — P. 793–802.
44. Lucas, R. TNF receptors in the microvascular pathology of acute respiratory distress syndrome and cerebral malaria / R. Lucas [et al.] // *J. Leukoc. Biol.* — 1997. — V. 61. — P. 551–558.
45. Munoz, C. Dysregulation of in vitro cytokine by monocytes during sepsis / C. Munoz [et al.] // *J. Clin. Invest.* — 1991. — V. 88. — P. 1747–1754.
46. Scholz, H. Fever / H. Scholz // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 2003. — V. 284. — P. R913–R915.
47. Ильина, А.Е. Интрелейкин 1 как медиатор воспаления и терапевтическая мишень / А.Е. Ильина [и др.] // *Научно-практическая ревматология.* — 2011. — № 3. — С. 62–71.
48. Bartfai, T. Fever / T. Bartfai, B. Conti // *J. The Scientific World.* — 2010. — V. 10. — P. 490–503.
49. Conti, B. Cytokines and fever. Front / B. Conti [et al.] // *Biosci.* — 2004. — № 9. — P. 1433–1449.
50. Dagenais, M. The inflammasome: in memory of Dr. Jurg Tschopp / M. Dagenais, A. Skeldon, M. Saleh // *Cell Death and Differentiation.* — 2012. — V. 19. P. 5–12.
51. Литвинов, А.В. Лихорадки / А.В. Литвинов, И.А. Литвинова // *Медицина в литературно-художественном пространстве.* — 2-е изд. — М.: МЕД пресс-информ, 2012. — С. 91–96.
52. Жданов, К.В. Развитие учения об инфекционных болезнях в академии в XIX столетии / Под ред. проф. К.В. Жданова и акад. РАМН проф. Ю.В. Лобзина // *Первая в России кафедра инфекционных болезней (к 115-летию кафедры)* / — СПб.: ВМедА, 2011. — С. 5–16.
53. Greg Kelly, N.D. Body Temperature Variability (Part 1): A Review of the History of Body Temperature and its Variability Due to Site Selection, Biological Rhythms, Fitness, and Aging / N.D. Greg Kelly // *Alternative Medicine Review.* — 2006. — V. 11, № 4. — P. 278–293.
54. Казанцев, А. П. Дифференциальная диагностика лихорадок / А. П. Казанцев [и др.]. // *Дифференциальная диагностика инфекционных болезней.* — М.: Медицинское информационное агентство, 1999. — Гл. 1. — С. 7–45.
55. Лобзин, Ю.В. Маски инфекционных болезней / Ю.В. Лобзин [и др.]. — СПб.: Фолиант, 2003. — 200 с.
56. Жданов, К.В. Острый инфекционный эндокардит в практике врача-инфекциониста / К.В. Жданов [и др.] // *Журнал инфектологии.* — 2009. — Т. 1, № 1. — С. 73–75.
57. Лобзин, Ю.В. Лихорадка / Ю.В. Лобзина // *Инфекционные болезни от А до Я. Терминологический словарь.* — СПб.: Диал Паблишинг, 2012. — С. 223–230.

58. Лобзин, Ю.В. Дифференциальный диагноз при лихорадке / Ю.В. Лобзин // Науч.-практ. конф. «Антибактериальные препараты в практике интенсивной терапии». — СПб., 3 марта 2000. — С. 20—30.

59. Дьяченко, Л.И. К истории развития психиатрической науки в Украине / Л.И. Дьяченко; под общ. ред. И.И. Кутько, П.Т. Петрюка // История украинской психиатрии : сборник научных работ Украинского НИИ клинической и экс-

периментальной неврологии и психиатрии и Харьковской городской клинической психиатрической больницы № 15 (Сабуровой дачи). — Харьков, 1994. — Т. 1. — С. 45—48.

60. Magda Whitrow. Wagner-Jauregg and fever therapy // Magda Whitrow // Medical History. — 1990. — V. 34. — P. 294—310.

61. Хаитов, Р.М. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Иммунология. — 2003. — № 4. — С. 196—203.

Авторский коллектив:

Жданов Константин Валерьевич — начальник кафедры инфекционных болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)292-33-57, e-mail: zhdanovkv@rambler.ru

Яременко Михаил Васильевич — доцент кафедры инфекционных болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, к.м.н.; тел.: 8(812)292-34-33, e-mail: ymv.home@mail.ru

Финогеев Юрий Петрович — ассистент кафедры инфекционных болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, к.м.н.; тел.: 8(812)292-34-33

Захаренко Сергей Михайлович — заместитель начальника кафедры инфекционных болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, к.м.н., доцент; тел.: 8(812)292-34-33, e-mail: zsm@mail.ru

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПАРНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИЧ-1 У БОЛЬНЫХ В КРОВИ И ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

Е.В. Степанова, О.Н. Леонова, А.С. Шеломов, Н.В. Фоменкова, Н.Е. Дементьева, Н.А. Беляков

Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Санкт-Петербург

Clinical value of HIV-1 matched detection in patients' blood and cerebrospinal fluid

E.V. Stepanova, O.N. Leonova, A.S. Shelomov, N.V. Fomenkova, N.E. Dementyeva, N.A. Belyakov
AIDS and infectious diseases prevention and control center, Saint-Petersburg

Резюме. Проведено сравнительное исследование 100 больных с ВИЧ-инфекцией с показателем количества CD4-лимфоцитов <350 кл/мкл, нуждающихся в назначении ВААРТ, разделенных на две группы: 1 — без клинических признаков поражения ЦНС (54 человека) и 2 — имеющих признаки поражения ЦНС различной этиологии (46 человек). Изучались показатели вирусной нагрузки (ВН) ВИЧ в плазме крови и спинномозговой жидкости (СМЖ). В 45,7% случаях поражения вызваны микст-инфекциями. У пациентов 2 группы уровень ВН ВИЧ в СМЖ в 7,6 раз выше, чем у пациентов 1 группы. ВН ВИЧ в плазме значительно выше показателей в СМЖ. У восьми больных установлено превышение ВН ВИЧ в МЖ. Поражения головного мозга различной этиологии с клиническими проявлениями нарушают целостность гематоэнцефалического барьера, способствуют накоплению ВИЧ в СМЖ и усиливают репликацию вируса в мозговой ткани. Сделан вывод о целесообразности проведения исследования на ВИЧ в СМЖ.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, центральная нервная система, вирусная нагрузка ВИЧ, CD4 лимфоциты, спинномозговая жидкость.

Введение

По частоте поражения органов и систем при ВИЧ-инфекции нервная система стоит на втором месте после иммунной, что связано с наличием патогенетических механизмов и наличием в головном мозге клеток, имеющих CD4- и ко-рецепторы (астроциты, микроглия, олигодендроциты), что делает их уязвимым к вирусу [1, 2]. В этой связи у значительной части больных развиваются выраженные нарушения функции нервной системы в виде когнитивных расстройств, ВИЧ-энцефалопатии, деменции, которые могут приводить к потере профессиональных навыков и инвалидизации [3, 4].

Клинические проявления поражений нервной системы встречаются на различных стадиях ВИЧ-инфекции у 40% пациентов, а у 4–5% из них неврологическая симптоматика становится первым клиническим проявлением манифестации болезни. Поражение вирусом ЦНС может привести

Abstract. A comparative investigation has been applied to 100 HIV infected patients with CD4 lymphocytes rate <350 cells/microliter, demanding HAART prescription, divided into two groups: 1 — without clinical features of CNS damage (54 people) and 2 — with features of CNS damage of various etiology (46 people). HIV viral load (VL) indices in blood plasma and cerebrospinal fluid (CSF) have been examined. 45,7 % of damages are caused with mixed infections. CSF HIV VL level with the 2 group patients is 7,6 times as high as that of 1 group patients. HIV VL in plasma is considerably higher than in CSF. Eight patients showed increased CSF HIV VL. Brain damages of various etiology with clinical implications violate hematoencephalic barrier integrity, contribute to HIV accumulation in CSF and intensify virus replication in brain tissue. It has been concluded that CSF examination for HIV is expedient.

Key words: HIV infection, central nervous system, HIV viral load, CD4 lymphocytes, cerebrospinal fluid.

к ВИЧ-энцефалиту и деменции, распространённость которых среди ВИЧ-инфицированных остается высокой [1–4].

С появлением высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) прогноз при ВИЧ-1-инфекции существенно улучшился. Тем не менее, многие проблемы в лечении СПИДа пока не решены. Ранние отклонения в восприятии собственного заболевания и окружающего мира, наслаивающиеся на неврологические и инфекционные процессы в организме, отрицательно влияют на приверженность больных к терапии, в связи с чем нарастает число больных в запущенных стадиях заболевания СПИДом, требующих стационарного лечения.

К факторам, приводящим к поражению нервной системы, относят: первичное непосредственное воздействие ВИЧ, активированных макрофагов, цитокиновые реакции, аутоиммунные про-

цессы, оппортунистические и вторичные заболевания, опухоли, психогенные и другие факторы [1–4]. Однако многие вопросы патогенеза, в том числе формирование изолятов ВИЧ в головном мозге и транспорт вируса через гематоэнцефалический барьер, обсуждаются и требуют верификации.

Пациенты с ВИЧ-инфекцией и поражением ЦНС являются наиболее тяжелыми и диагностически сложными, для них характерна высокая летальность и высокий процент инвалидизации.

Цель исследования – изучить взаимосвязи между состоянием иммунной системы, интенсивностью репликации ВИЧ и особенностями проявлений и течения поражений головного мозга для оптимизации лечения больных

Материалы и методы

В исследование были включены 100 больных с ВИЧ-инфекцией в возрасте 20–45 лет, поступившие в стационар центра СПИД на лечение. Большинство пациентов с ВИЧ-инфекцией были инфицированы ВИЧ при внутривенном употреблении наркотиков. Из 100 пациентов 76 человек (76%) в анамнезе использовали введение инъекционных наркотиков, 13 человек (13%) больных в прошлом злоупотребляли алкоголем и лишь 11 больных не имели вредных привычек. Все больные, имеющие опыт употребления наркотических веществ и/или алкоголя, находились в стадии ремиссии.

Пациенты были разделены на 2 группы:

– 1-я группа – больные, без выраженных клинических признаков поражения ЦНС (54 человека);

– 2-я группа – больные, имеющие признаки поражения ЦНС различной природы на фоне ВИЧ-инфекции (46 человек).

Обследование больных проводилось в соответствии с российскими стандартами «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным болезнью, вызванной вирусом иммунодефицита человека», Приказом Минздравсоцразвития России № 475 от 9.07.2007 г. [5]. Больные давали информированное согласие на участие в исследовании.

У всех больных было проанализировано клиническое течение болезни. В план обследования входила оценка психоневрологического статуса. Проводилось исследование спинномозговой жидкости с целью определения ВН ВИЧ-1 и сравнение этих результатов с показателями в плазме крови [6]. Пункцию проводили с использованием манометрической стеклянной трубки с регистрацией скорости истечения СМЖ и начального давления. Также проводилось цитологическое, вирусологическое, биохимическое, микроскопическое,

культуральное (выделение бактерий и грибов) исследование спинномозговой жидкости, которое включало бакпосевы, посевы на среды для выявления грибов, выделение антигена криптококка в спинномозговой жидкости и в крови, а также определение ДНК цитомегаловируса, токсоплазмы, вирусов простого герпеса, Эпштейна – Барр в СМЖ. Диагностика туберкулеза проводилась по медицинским стандартам: лучевая диагностика органов грудной полости, при необходимости – брюшной, туберкулинодиагностика, УЗИ органов брюшной полости, микроскопическое и бактериологическое исследование на микобактерии туберкулеза (кровь, мокрота, плевральная жидкость, бронхоальвеолярная жидкость, спинномозговая жидкость (СМЖ), биологические жидкости и др.). Проводили микроскопическое исследование мазков мокроты, спинномозговой жидкости, мочи.

Определение вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови и СМЖ выполнялось на автоматизированном комплексе Abbott *m2000 RealTime System*. Исследования проводились с использованием тест-систем Abbott *RealTime HIV-1* по методике, аналогичной для определения вируса в плазме крови.

Оценку количества CD4-лимфоцитов в крови и СМЖ выполняли методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитометре *Bekton Dickinson FACS Calibur* с использованием реагента *TriT-EST CD3/CD4/CD45*.

МРТ головного мозга проводилась 42 больным: в 1-й группе – 15 человек; во 2-й – 27 человек.

Стадии ВИЧ-инфекции устанавливали в соответствии с российской клинической классификацией (2006 г.) [3].

Результаты и обсуждение

Средний возраст больных составил для 1-й группы – 32,6 лет, для 2-й группы – 35,9 лет.

Сроки инфицирования 1-й группы составляли 4,5 года, состояние больных оценивали как удовлетворительное или средней тяжести; во второй группе – 6,5 лет, состояние – среднетяжелое или тяжелое.

Диагноз ВИЧ-инфекции был установлен и подтвержден у всех 100 пациентов, возбудителем был ВИЧ-1, субтип А, характерный в нашем регионе для инъекционного заражения у наркопотребителей [7–8].

У большинства больных (54,0%) вследствие прогрессирования ВИЧ-инфекции развитие оппортунистических заболеваний происходило в течение одного месяца до поступления в стационар, в течение двух месяцев – у 23 пациентов (23,0%), у остальных (33 (33,0%)) – свыше двух месяцев. Общие симптомы прогрессирования инфекцион-

ного заболевания (лихорадка, интоксикация, снижение массы тела) наблюдались у 46 пациентов (46,0%).

В дебюте заболевания во 2-й группе больных чаще встречался менингизм (49,9%), гемипарезы (35,4%), дизартрии (17,3%), судорожный синдром (27,8%), реже зрительные нарушения (15,2%), обусловленные поражением зрительного нерва, вегетативная симптоматика (32,9%) в виде признаков ортостатической гипотензии, реже — перманентных психовегетативных кризов и колебаний артериального давления.

По стадиям ВИЧ-инфекции больные распределялись следующим образом (рис. 1):

- 1-я группа: 4А — 42,6%, 4Б — 29,6%, 4В — 27,8%.
- 2-я группа: 4А — 4,3%, 4Б — 2,2%, 4В — 93,5%.

Вторую группу отмечал высокий процент больных на стадии СПИД.

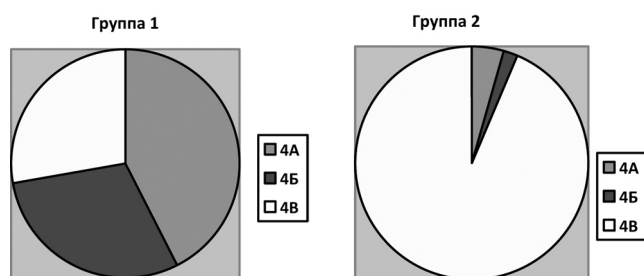


Рис. 1. Распределение по стадиям ВИЧ-инфекции в исследуемых группах

Среди больных, включенных в 1-ю и 2-ю группы исследований, преобладали мужчины: 64,8% и 76,1% соответственно.

Таким образом, в 1-й группе стадии ВИЧ-инфекции среди больных распределялись примерно одинаково, а во 2-й группе преобладали наиболее тяжелые больные в стадии 4В с наличием оппортунистических заболеваний.

При обследовании больных 2-й группы нами были диагностированы следующие поражения центральной нервной системы: грибковое поражение головного мозга — 15 случаев (32,6%); токсоплазмоз головного мозга — 10 (21,7%); ВИЧ-энцефалит — 11 (23,9%); ВЭБ-менингоэнцефалит — 8 (17,4%); ЦМВ — менингоэнцефалит — 6 (13,04%); туберкулезный менингит — 4 (8,7%); нейросифилис — 2 (4,3%); герпетический менингоэнцефалит — 1 (2,6%); очаговое образование головного мозга неуточненной этиологии — 1 (2,6%) менингит/менингоэнцефалит неуточненной этиологии — 5 (10,9%) (рис. 2). В 17 случаях поражение ЦНС имело характер микст-поражений. Таким образом, у 37,0% больных 2-й группы поражения ЦНС были сочетанными и представляли собой различные вирусные, грибковые, бактериальные и другие комбинации.

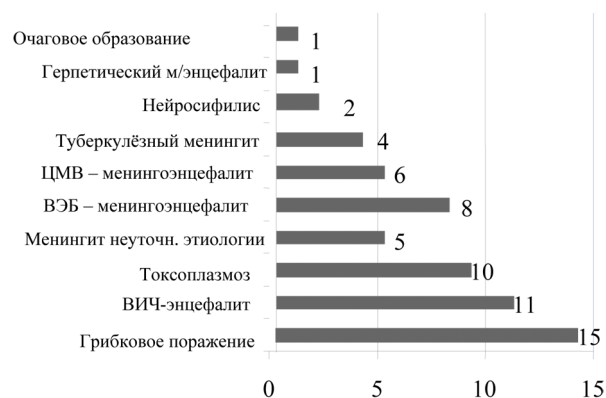


Рис. 2. Клинический характер поражений головного мозга у больных 2-й группы (46 человек)

Среди больных с выраженными неврологическими проявлениями, преобладали лица с поражением ЦНС, вызванным криптококковой инфекцией (32,6%). Характерные клинические проявления при поражении головного мозга оппортунистическими инфекциями приведены в таблице 1.

Первыми психоневрологическими жалобами, на которые больные обращали внимание, были утрата внимания, выраженная общая слабость, нарастающая по интенсивности головная боль на фоне повышения температуры до 38–39°C в течение нескольких недель. Наблюдалось головокружение несистемного характера, нарушения зрения, тошнота и рвота. Явления интоксикации и прогрессирование ВИЧ-инфекции имело место у всех больных: лихорадка, диарейный синдром, снижение массы тела.

На втором месте после грибковых поражений, находилась патология головного мозга, обусловленная, вероятно, преимущественным влиянием вируса иммунодефицита человека на ЦНС (23,9%), поскольку у них не было выявлено при лабораторном и микробиологическом обследовании других причин поражения ЦНС. Эти больные поступали в стационар в тяжелом состоянии с низким уровнем CD-лимфоцитов, высокой вирусемией, спутанным сознанием или деменцией тяжелой степени.

Также в значительном количестве был обнаружен токсоплазмоз головного мозга (21,7%). Следует отметить, что в клинической картине церебрального токсоплазмоза у больных преобладали симптомы очагового энцефалита, свидетельствующие о поражении полушарий, мозжечка или ствола мозга (гемипарез, дезориентация, афазия, судороги и пр.). У некоторых больных первыми симптомами заболевания были эпилептические припадки, которые послужили причиной обращения за медицинской помощью. В остром периоде в неврологическом статусе у всех пациентов обнаруживались поражения черепных нервов: лицевого, подъязычного, глазодвигательного. Пирамидные па-

Таблица 1

Клинические проявления поражений головного мозга у больных с ВИЧ-инфекцией по материалам собственных наблюдений и литературных данных [1–3]

Возбудители	Неврологические симптомы	Другие клинические симптомы	Методы верификации
Криптококк	Ригидность затылочных мышц, нарушения функции черепных нервов, редко судорожные припадки	Лихорадка, головная боль, повышенная тревожность, нарушение зрения	Определение криптококкового антигена в сыворотке крови, в СМЖ, обнаружение возбудителя в мазке, окрашенной тушью, КТ, МРТ, при офтальмологическом обследовании — атрофия дисков зрительных нервов
ВИЧ	Генерализованная деменция, паралич, мутизм	Отсутствие лихорадки, нарушение когнитивной функции, двигательные расстройства, нарушение поведения	Нейропсихологическое обследование, КТ, МРТ, ВН ВИЧ в СМЖ
Токсоплазмоз	Очаговые неврологические симптомы, судорожные припадки, признаки повышения внутричерепного давления	Лихорадка, вялость, головная боль, нарушение сознания, дезориентация	Определение Ig G к токсоплазме, ПЦР на токсоплазму в СМЖ и плазме крови, эмпирическое лечение, МРТ, КТ
Цитомегало-вирус	Нарушение функции черепных нервов, отсутствие очаговых неврологических симптомов, ригидность затылочных мышц, фотофобия	Лихорадка, сонливость, дезориентация, головная боль	ПЦР на ЦМВ в СМЖ и плазме крови, офтальмологическое обследование (ЦМВ-ретинит), КТ, МРТ
Микобактерия туберкулеза	Менингеальные симптомы, очаговые неврологические нарушения	Лихорадка, вялость, головная боль, выраженная интоксикация, ранняя загруженность	Выделение культуры возбудителя из СМЖ, ПЦР на туберкулез; КТ, МРТ, на рентгенограмме признаки активного туберкулеза в 50% случаев
Вирус Эпштейна — Барр	Нарушение функции черепных нервов, отсутствие очаговых неврологических симптомов, ригидность затылочных мышц, фотофобия	Лихорадка, сонливость, дезориентация, головная боль	ПЦР на ВЭБ в СМЖ и плазме крови, биопсия мозга, КТ, МРТ

резы конечностей по гемитипу нарастали по мере прогрессирования заболевания.

Диагноз ЦМВ поражения ЦНС в представленном исследовании был поставлен пяти пациентам (13,04%). Заболевание развивалось постепенно: с общего недомогания, слабости, с небольшой цефалгии продолжительностью от нескольких недель до 3 месяцев. Однако в большей степени больных беспокоили: снижение внимания, памяти, рассеянность, расстройство сна, сонливость.

Также следует отметить такое серьезное и тяжелое поражение ЦНС, как туберкулезный менингит, который был диагностирован нами у 4 больных (8,7%). Особенности течения туберкулезного менингита являлось быстрое прогрессирование, характерная клиническая картина менингита с развитием ранней загруженности больного, выраженная интоксикация.

ВЭБ-менингоэнцефалит диагностирован у 8 пациентов и характеризовался атипичным течением, невыраженной неврологической симптоматикой, незначительным цитозом.

Кроме того, у больных 1-й и 2-й групп были выявлены другие осложнения ВИЧ-инфекции (табл. 2).

Таблица 2

Осложнения ВИЧ-инфекции у больных 1-й и 2-й групп

Осложнения	Группа 1, n = 54	Группа 2, n = 46
Оральный кандидоз	49 (90,7%)	26 (56,5%)
Кандидоз пищевода	7 (12,9%)	7 (15,2%)
Анемия	18 (33,3%)	24 (52,2%)
Тромбоцитопения	12 (22,2%)	10 (21,7%)
Дефицит массы тела	16 (29,6%)	7 (15,2%)
Опоясывающий герпес	2 (3,7%)	2 (4,3%)
ЦМВ-хориоретинит	4 (7,4%)	4 (8,7%)
Саркома Капоши	1 (1,9%)	1 (2,6%)
Себорейный дерматит	4 (7,4%)	7 (15,2%)
Туберкулез	5 (9,3%)	8 (17,4%)
Пневмоцистная пневмония	0	2 (4,3%)

В большинстве случаев в обеих группах преобладал оральный кандидоз, который диагностировался у 90,7% больных 1-й группы и 56,5% 2-й группы.

Остальные осложнения ВИЧ-инфекции, такие как кандидоз пищевода, себорейный дерматит, ЦМВ-хориоретинит, саркома Капоши, туберкулез,

пневмоцистная пневмония, были в равной мере представлены в обеих группах.

В таблице 3 показаны средние значения иммунологических и вирусологических показателей в крови и спинномозговой жидкости у больных.

Таблица 3

Средние значения иммунологических и вирусологических показателей у больных 1-й и 2-й групп

Показатель	Группа 1	Группа 2
CD4-лимфоциты (кровь)	79 ± 10,6 кл/мкл	82 ± 11,02 кл/мкл
Вирусная нагрузка ВИЧ (кровь)	732 ± 191 тыс. коп/мл	628 ± 116 тыс. коп/мл
Вирусная нагрузка ВИЧ (СМЖ)	22 ± 7 тыс. коп/мл	168 ± 44 тыс. коп/мл

При проведении спинномозговой пункции выявлены следующие показатели: для 1-й группы среднее давление СМЖ составило 179,1 ± 28,6 мм вод. ст., для 2-й — 214,8 ± 34,7 мм вод. ст. (при норме до 180 мм вод. ст.). Различия между группами были статистически недостоверны, тем не менее, повышенные показатели свидетельствуют о развитии гипертензии в ликворном пространстве, которая сочетается с повышенным цитозом.

У пациентов 2-й группы с поражением ЦНС уровень вирусной нагрузки (ВН) ВИЧ в спинномозговой жидкости был в 7,6 раз выше, чем у пациентов 1-й группы без поражения ЦНС. При этом у большинства больных ВН в плазме крови была намного выше и достоверна ($p \leq 0,01 - 0,001$) в сравнении с СМЖ (для 1-й группы — в 33 раза, для 2-й — почти в 5 раз).

Исключение составили 8 больных, у которых в СМЖ концентрация ВИЧ превышала концентрацию в плазме крови. При проведении анализа среди больных 1-й и 2-й групп были выделены пациенты, у которых вирусная нагрузка ВИЧ в спинномозговой жидкости превышала этот показатель в плазме (подгруппа А), и больные, у которых вирусная нагрузка ВИЧ в плазме была выше, чем в спинномозговой жидкости (подгруппа Б) (табл. 4).

Результаты исследования показали, что среди больных подгруппы А у 2 больных без клинических признаков поражения ЦНС (1-я группа) средняя вирусная нагрузка в плазме составила 70,8 тыс. коп/мл, а в спинномозговой жидкости — 206,5 тыс. коп/мл, у больных с клиническими признаками поражения ЦНС (2 группа) в плазме — 200,1 тыс. коп/мл, в спинномозговой жидкости — 330,6 тыс. коп/мл.

Таблица 4

Показатели вирусной нагрузки у больных 1-й и 2-й групп в плазме и СМЖ (тысяч копий РНК ВИЧ в мл)

Показатель	1-я группа		2-я группа	
	Количество больных и средняя ВН в плазме	Количество больных и средняя ВН в СМЖ	Количество больных и средняя ВН в плазме	Количество больных и средняя ВН в СМЖ
ВН СМЖ > плазмы Подгруппа А	n = 2 70,8	n = 2 206,5	n = 6 200,1	n = 6 330,6
ВН СМЖ < плазмы Подгруппа Б	n = 52 758,2 *	n = 52 14,6	n = 40 707,1 **	n = 40 143,3

* $p < 0,05$ — сравнение ВН в плазме и СМЖ у больных 1-й группы;

** $p < 0,05$ — сравнение ВН в плазме и СМЖ у больных 2-й группы.

В подгруппе Б среди пациентов 1-й группы средняя концентрация вирусной нагрузки в плазме составила 758,2 тыс. коп./мл, в спинномозговой жидкости — 14,6 тыс. коп./мл, во 2-й группе в плазме — 707,1 тыс. коп./мл, в спинномозговой жидкости — 143,3 тыс. коп./мл. У больных с ВИЧ-инфекцией с поражением центральной нервной системы наблюдается высокая вирусная нагрузка как в плазме, так и в спинномозговой жидкости. Пациенты, у которых вирусная нагрузка в спинномозговой жидкости превышала уровень вирусной нагрузки в плазме, характеризовались более тяжелым течением болезни и тяжелыми поражениями со стороны нервной системы.

Сравнение содержания ВИЧ в плазме крови и СМЖ свидетельствует о более интенсивной репликации вируса в общей лимфоидной ткани, чем в клетках головного мозга (микроглии, олигодендроцитов и астроцитов) у пациентов обеих групп (рис. 3, 4). Но у пациентов 2-й группы, имеющих оппортунистические заболевания ЦНС различной этиологии, отмечаются более высокие значения вирусной нагрузки ВИЧ в ликворе, чем у пациентов 1-й группы, не имеющих признаков заболеваний ЦНС. Что первично, повышенная репликация вируса ВИЧ в тканях головного мозга, способствующая повышению восприимчивости к вторичным заболеваниям ЦНС, или повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера или эпендимы, отделяющей мозг от СМЖ для вируса ВИЧ при вторичных болезнях у пациентов выраженным иммунодефицитом, — пока неизвестно.

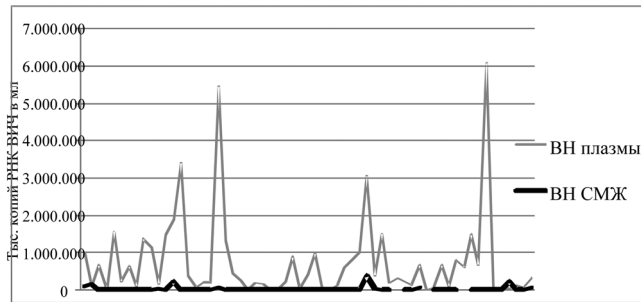


Рис. 3. Соотношение вирусной нагрузки (тысяч копий РНК ВИЧ в мл) в плазме крови и в СМЖ у пациентов 1-й группы. Лишь в отдельных случаях отмечаются пики РНК ВИЧ в СМЖ, которые несоизмеримо меньше по сравнению с РНК ВИЧ в плазме крови

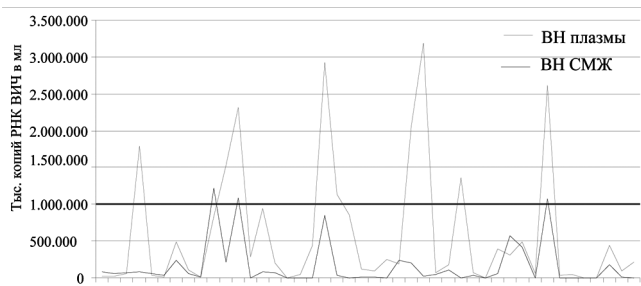


Рис. 4. Соотношение вирусной нагрузки (тысяч копий РНК ВИЧ в мл) в плазме крови и в СМЖ у пациентов 2-й группы. У многих больных в плазме отмечается значительная концентрация РНК ВИЧ в одном порядке величин с показателями СМЖ

При обследовании больных 1-й и 2-й групп с помощью лучевых методов диагностики (МРТ головного мозга) были выявлены следующие изменения:

- 1-я группа — заместительная и смешанная гидроцефалия — 26,7%, включая ВИЧ-энцефалопатию, атрофию вещества головного мозга, очаги сосудистого генеза — 13,3%.

- 2-я группа — заместительная и смешанная гидроцефалия — 37,4%, включая ВИЧ-энцефалопатию, очаговое образование головного мозга — 37,4%, кистозные изменения — 11,1%.

Таким образом, у 9 больных 1 группы (16,7%) с использованием лучевых методов были выявлены изменения головного мозга при отсутствии каких-либо анамнестических данных, свидетельствующих о поражении ЦНС. В связи с этим можно сделать вывод о том, что у части больных можно диагностировать изменения со стороны ЦНС на раннем этапе. Именно ранние нарушения в головном мозге являются наиболее значимыми, поскольку они открывают путь к последующим повреждениям клеток и развитию ВИЧ-деменции. Данные исследования могут явиться основой для создания алгоритмов обследования пациентов с ВИЧ-инфекцией с учетом сроков заболевания, клинической симптоматики, показателей количе-

ства CD4-лимфоцитов и вирусной нагрузки ВИЧ в крови и спинномозговой жидкости. Эти результаты могут повлиять на более раннее назначение АРВТ, до развития ВИЧ-деменции [9-11].

Нами были сопоставлены две группы пациентов с выраженной иммуносупрессией и развитием на этом фоне вторичных заболеваний, которые по классификации CDC соответствуют стадиям В3 — С3, т. е. манифестации ВИЧ-инфекции на фоне крайне низких показателей CD4-лимфоцитов в крови (79–82 кл/мкл), виремии (6 lg коп/мл) и наличии всех манифестных осложнений. Группы отличались лишь по длительности заболевания в два года и появлению выраженных клинических психоневрологических изменений во 2-й группе. Вместе с тем, те или иные радиологические проявления регистрировали у больных обеих групп, что свидетельствовало, с одной стороны, о каких-то исходных воздействиях на мозг на ранних стадиях процесса, с другой — о дальнейшем прогрессировании болезни с присоединением вторичных инфекций. Ранее было показано, что ВИЧ, проникая в мозг на ранних стадиях заболевания, оказывает альтерирующее воздействие в виде легких, а затем выраженных когнитивных и нейропсихических нарушений [12]. В этой связи раннее обнаружение этих отклонений и оценка содержания ВИЧ с определением фармакорезистентности штаммов позволит более эффективно блокировать репликацию ВИЧ путем подбора адекватных препаратов и схем ВААРТ [13].

Рядом исследователей в Северной Америке и Западной Европе было показано, что в период широкого применения ВААРТ удается существенно снизить частоту мозговых нарушений и их тяжесть [14], а также свести к минимуму опасность присоединения оппортунистических поражений ЦНС. В нашей стране и на территории ближнего зарубежья обстановка значительно отличается большим числом запущенных случаев, связанных, главным образом, с наркопотреблением. В представленной выборке почти все пациенты относились к этой категории людей, характеризующейся поздним началом ВААРТ и низкой приверженностью к лечению. Итогом является иммуносупрессия и высокое содержание ВИЧ в биологических жидкостях, включая СМЖ.

ВИЧ в СМЖ может содержаться в достаточно большой концентрации от $14,6 \times 10^3$ в 1-й группе до $143,3 \times 10^3$ — во 2-й. Необходимо отметить, что при близких значениях показателей в плазме между группами отличия по СМЖ весьма значительны, а величины пропорциональны длительности заболевания.

ВИЧ в СМЖ, по-видимому, отражает мозговой изолят вируса. Этот термин появился в тот период наблюдений за эволюцией вируса в организме,

когда обнаружилось, что ВИЧ по количеству и своим генетическим свойствам может отличаться в СМЖ, слезной жидкости, вагинальном отделяемом, сперме и других биологических жидкостях [12–16].

В ряду этих жидких сред СМЖ занимает особое место, т. к. больше всего может отражать содержание ВИЧ в мозговой ткани, которая отделена от системного кровотока гематоэнцефалическим барьером, а от ликвора эпендимой (слоем эпителиальной выстилки, проницаемость которой для ВИЧ еще не определена) [12]. В этой связи различия в концентрации РНК ВИЧ между кровью и СМЖ могут отражать как градиент между мозговой тканью и кровью, так и особенность проницаемости эпендимы для вирусных частиц. В исследованиях S. Letendre [14] не было отмечено прямой зависимости между ВИЧ в тканях мозга и СМЖ, что свидетельствует о существовании индивидуальных различий по проницаемости эпендимы для ВИЧ. Вместе с тем, нет более близкой среды, отражающей особенности поведения вируса в ЦНС, чем СМЖ.

Особый интерес вызывают те случаи, где концентрации РНК ВИЧ в СМЖ существенно больше в сравнении с плазмой. Таких случаев суммарно было обнаружено 8 из 100 наблюдений. При этом содержание вируса было в несколько раз выше в СМЖ (от 1,5 до 3), и поражения ЦНС у этих больных были более значительными.

Как рассматривать такие случаи? Ранее нами было отмечено, что в нескольких процентах случаев обнаруживается превышение ВИЧ во влагалищных выделениях [15]. Такая же закономерность выявляется в 5% случаев у мужчин в сперме, что может свидетельствовать о наличии более актив-

ной репликации ВИЧ в тканевых изолятах. Можно полагать, что на начальных этапах заболевания первично вирус колонизирует те или иные ткани, отдавая предпочтение конкретным CD4-клеткам, реплицируется и мутирует там в своем режиме, отличном от других тканей. Поскольку проницаемость тканевых барьеров (гематоэнцефалического и гематоликворного) для препаратов ВААРТ разная, различны и фармакообусловленные мутации ВИЧ, что было показано для вируса в СМЖ на генетическом уровне [13]. Возникают ситуации, когда изолят в СМЖ может быть как менее чувствительным, так и более чувствительным к противовирусным препаратам [12].

Проницаемость гематоэнцефалического барьера избирательна для фармакопрепаратов, как и чувствительность к ним субтипов или тканевых штаммов вируса [12]. В этой связи с учетом опасности развития ВИЧ-обусловленных поражений головного мозга, мы считаем оправданным проведение люмбальной пункции с анализом СМЖ на РНК ВИЧ и тестирование на других возбудителей во всех случаях, когда есть подобного рода опасность.

Ранее мы попытались отработать алгоритм проведения диагностических процедур и исследований для выявления первичных и вторичных поражений головного мозга при ВИЧ-инфекции (табл. 5). Методы имеют различную диагностическую ценность и затратность. Настоящее исследование позволило нам внести в эту таблицу столбец исследований СМЖ на ВИЧ и оппортунистические инфекции, которые могут быть информативны на начальных стадиях заболевания и определяющими в оценке тяжести поражения и выборе тактики лечения на продвинутых стадиях.

Таблица 5

Диагностическая значимость различных методов диагностики ВИЧ-обусловленных поражений головного мозга (Н.А. Беляков и др. с дополнениями, 2012)

Поражения головного мозга	Методы диагностики								
	КТ	МРТ	ПЭТ	МР-С	НФИ	ПТ	КС	СМЖ	
								ВН ВИЧ	ОИ, микробиология
Первичные ВИЧ-обусловленные:									
бессимптомные	—	—	±	±	±	—	—	±	—
легкие	—	—	+	+	+	+	±	+	—
умеренные	±	±	+	+	+	+	+	+	—
СПИД-деменция	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Вторичные: туберкулез, сифилис, токсоплазмоз, опухоли и др.	+	+	+	+	+	±	+	—	+

КТ — компьютерная томография; МРТ — магнитно-резонансная томография; ПЭТ — позитронно-эмиссионная томография; МР-С — магнитно-резонансная спектроскопия; НФИ — нейрофизиологические исследования; ПТ — психологическое тестирование; КС — клиническая симптоматика; СМЖ — спинномозговая жидкость: ВН ВИЧ — вирусная нагрузка ВИЧ в СМЖ; ОИ — выявление ДНК возбудителей оппортунистических инфекций в СМЖ. Заштрихованы методы лабораторной диагностики СМЖ, внесенные нами на основании исследований.

Заключение

У пациентов с клиническими признаками поражения ЦНС уровень вирусной нагрузки ВИЧ в спинномозговой жидкости в 7,6 раз выше, чем у пациентов 1-й группы без поражения ЦНС. Показатели вирусной нагрузки у пациентов, как правило, в плазме крови значительно выше показателей в спинномозговой жидкости. У небольшой части больных установлено превышение вирусной нагрузки ВИЧ в спинномозговой жидкости, что свидетельствует, вероятнее всего, о большей репликации вируса в мозге. Поражения головного мозга различной этиологии с клиническими проявлениями нарушают целостность гематоэнцефалического барьера, способствуют накоплению ВИЧ в СМЖ и усиливают репликацию вируса в мозговой ткани. Пациентам с ВИЧ-инфекцией, у которых наблюдается выраженная иммуносупрессия, требуется проведение спинномозговой пункции с исследованием вирусной нагрузки на ВИЧ, а также других возбудителей из числа оппортунистических инфекций.

Литература

1. Вирус иммунодефицита человека — медицина / под ред. Н.А. Белякова, А.Г. Рахмановой. — СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2010. — 752 с.
2. Бартлетт, Д. Клинические аспекты ВИЧ — инфекции — 2009–2010 / Д. Бартлетт, Д. Галант, П. Фам. — М.: Р. Валент, 2010. — 490 с.
3. ВИЧ-инфекция и СПИД. Клинические рекомендации / под ред. В.В. Покровского. — 2-е изд. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 192 с.
4. Shapshak, P. Неврологические проявления ВИЧ-инфекции / P. Shapshak [et al.] // AIDS (русское издание). — 2011. — № 1. — С. 3–21.
5. «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным болезнью, вызванной вирусом иммунодефицита человека» // Приказ № 475 Минздравсоцразвития России от 9.07.2007г. — 18 с.
6. Justin, C. HIV-associated neurocognitive disorders: is there a hidden epidemic? / С. McA. Justin, J. Bruce, B. Brew // AIDS. — 2010. — № 9. — С. 1367–1370.
7. Беляков, Н.А. Моделирование и общие закономерности циркуляции субтипов и рекомбинантных форм ВИЧ / Н.А. Беляков [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2012. — № 2. — С. 7–18.
8. Дементьева, Н.Е. Анализ субтипов и фармакорезистентных вариантов ВИЧ, циркулирующих среди ВИЧ-инфицированных пациентов Санкт-Петербурга / Н.Е. Дементьева [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2011. — № 4. — С. 34–43.
9. Беляков, Н.А. Диагностика и механизмы поражения центральной нервной системы при ВИЧ — инфекции / Н.А. Беляков, Т.Н. Трофимова, В.В. Рассохин // Медицинский академический журнал. — 2012. — Т. 12, №2. — С. 56–67.
10. Гурская, О.Е. Особенности изменений функционального состояния головного мозга при ВИЧ-ассоциированной энцефалопатии / О.Е. Гурская [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2012. — № 4. — С. 82–87.
11. Трофимова, Т.Н. Общие особенности лучевой диагностики ВИЧ-ассоциированных поражений головного мозга / Т.Н. Трофимова [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2010. — № 2. — С. 51–60.
12. Беляков, Н.А. Головной мозг как мишень для ВИЧ / Н.А. Беляков // СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2011. — 48 с.
13. Беляков, Н.А. Механизмы поражения мозга при ВИЧ — инфекции / Н.А. Беляков [и др.] // Доклады РАМН. — 2012. — № 9. — С. 4–12.
14. Letendre, S. Correlates of CSF Viral Loads in 1221 Volunteers of the Charter Cohort / S. Letendre [et al.] // 17th conf. on retroviruses and opportunistic infectious. — 2010. — 172 abstract.
15. Lambert-Niclot, S. Определение РНК ВИЧ — 1 в образцах семенной жидкости, взятых у получавших лечение пациентов с неопределяемыми уровнями РНК ВИЧ — 1 в плазме в период с 2002 по 2011 гг. / S. Lambert-Niclot [et al.] // AIDS (русское издание). — 2012. — Т. 5, № 2. — С. 156–157.
16. Han, Y. ВИЧ — 1 выявляется в слезной жидкости даже после длительной высокоактивной антиретровирусной терапии / Y. Han [et al.] // AIDS (русское издание). — 2011. — Т. 4, №3. — С. 298–300.

Авторский коллектив:

Степанова Елена Владимировна — заместитель главного врача по медицинской части Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)786-35-55, e-mail: evs.55@mail.ru

Леонова Ольга Николаевна — заведующая отделением паллиативной медицины Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, к.м.н.; тел.: 8(812)495-92-65 e-mail: hiv-hospis@mail.ru

Шеломов Алексей Сергеевич — врач отделения паллиативной медицины Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями; тел.: 8(812)495-92-65, e-mail: shelomov_rambov@mail.ru

Фоменкова Наталья Владимировна — врач отделения паллиативной медицины Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, к.м.н., тел.: 8(812)495-92-65

Дементьева Наталья Евгеньевна — врач-лаборант клинико-диагностической лаборатории Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями; тел. 8(812)575-39-66, e-mail: lab.dementeva@mail.ru

Беляков Николай Алексеевич — руководитель Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, д.м.н., профессор, академик РАМН; тел.: 8(812)786-35-55, e-mail: zhgi@bk.ru

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ

В.Н. Тимченко¹, Ю.А. Архипова², Н.Д. Джангавадзе²

¹Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург

²Специализированный дом ребенка № 16 (психоневрологический), Санкт-Петербург

Immunological and laboratory features of HIV infection in infants of the first year of life

V.N. Timchenko¹, Yu.A. Arkhipova², N.D. Dzhangavadze²

¹Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg

²Specialized orphans' home № 16 (psychoneurological), Saint-Petersburg

Резюме. С целью изучения особенностей лабораторных показателей детей первого года жизни, рожденных ВИЧ-позитивными женщинами и оставшихся без попечения родителей, в динамике проанализированы образцы крови детей с использованием методов иммунологической и серологической диагностики ВИЧ-инфекции, качественного и количественного определения ВИЧ, а также клинический анализ крови и обследование на внутриутробные инфекции. Подтверждена информативность ПЦР-диагностики перинатальной ВИЧ-инфекции с первых месяцев жизни, иммуноферментного анализа и иммунного блоттинга — с возраста 9 месяцев. Выявлены отличия показателей эритроцитарного и лейкоцитарного звеньев гемограммы у детей при перинатальной ВИЧ-инфекции по сравнению с аналогичными показателями у детей, неинфицированных ВИЧ. Подтверждено улучшение лабораторных показателей в результате назначения ВААРТ (высокоактивной антиретровирусной терапии).

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, дети, лабораторная диагностика.

Abstract. To study the characteristics of laboratory tests of infants born to HIV-positive women and left without parental care in the dynamics analyzed blood samples using methods of immunological and serological diagnosis of HIV infection, the qualitative and quantitative determination of HIV, as well as clinical blood analysis and screening for prenatal infection. There are informative PCR diagnostics of perinatal HIV infection in the first months of life, ELISA and western blot from the age of 9 months. Identified difference performance of a specific red blood cell and leukocyte parts of blood of hemogram in infants with perinatal HIV infection compared with those in not infected infants. Improvement in laboratory parameters is the result of appointment of HAART (highly active antiretroviral therapy).

Key words: HIV infection, infants, laboratory diagnostics.

Введение

ВИЧ-инфекция относится к числу наиболее распространенных и опасных инфекций человека. В настоящее время одной из важнейших медико-социальных проблем является рост распространенности в популяции ВИЧ-инфекции, в том числе среди женщин детородного возраста [1], что ведет к увеличению числа детей, инфицированных ВИЧ в результате вертикальной трансмиссии. Так, 90% случаев ВИЧ-инфекции у детей является результатом перинатальной трансмиссии ВИЧ [2–5].

Поскольку ключевым звеном в патогенезе, клинике и прогрессировании ВИЧ-инфекции является неуклонно углубляющееся нарушение функции иммунной системы, изучение параметров иммунитета в динамике течения заболевания имеет важное значение, так как определяет тактику лечения и прогноз развития патологии [6].

Вертикальная экспозиция ВИЧ происходит в период функциональной незрелости иммунной системы ребенка [7, 8], что приводит к преждевременной активации иммунной системы и развитию аутоиммунных, лимфопролиферативных и других иммунопатологических процессов. Одними из первых признаков инфицирования являются анемия, лейкопения [9] или умеренный лейкоцитоз за счет лимфоцитоза [10], тромбоцитопения, повышение сыровоточных трансаминаз, гипергаммаглобулинемия [9].

Среди лабораторных предикторов неблагоприятного течения перинатальной ВИЧ-инфекции на первом году жизни ребенка наиболее значимы анемия, тромбоцитопения, лимфопения, ускоренная СОЭ [11]; существенное снижение Е-РОК, иммунорегуляторного индекса за счет CD4⁺-клеток, Ем-РОК, высокое содержание IgM, IgG, циркулирующих иммунных комплексов, повышение ак-

тивности C_2 , C_3 , C_4 , C_5 -компонентов комплемента [12]. У детей с перинатальной ВИЧ-инфекцией выявлены признаки иммунной девиации в пользу Th2-ответа: повышение в сыворотке крови концентрации IL-4 и общего IgE, снижение IFN- γ [13].

У детей отсутствует прямая корреляция между снижением содержания CD4-клеток и развитием стадии заболевания [14]. С целью прогнозирования заболевания у детей предложено с осторожностью использовать показатели соотношения CD4/CD8 для определения вероятности инфицирования ребенка, что является более чувствительным методом относительно определения уровня CD4-клеток [15].

Согласно литературным сведениям, дети ВИЧ-положительных женщин в достаточно высоком проценте случаев инфицированы возбудителями хронических вирусных гепатитов В и С, цитомегаловирусом (ЦМВ) [16]. Возможно, ЦМВ является фактором, влияющим на передачу ВИЧ от матери к ребенку [17].

Цель исследования — изучить особенности лабораторных показателей у детей первого года жизни, рожденных ВИЧ-положительными женщинами и оставшихся без попечения родителей.

Материалы и методы

Исследование проведено на базе Специализированного дома ребенка № 16 (психоневрологический). Обследовано 156 детей первого года жизни, рожденных ВИЧ-положительными женщинами.

Обследуемые дети разделены на две группы. Первую группу составили 58 детей с подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекции, из них 25 недоношенных детей, родившихся на сроке гестации 27 — 38 недель. Вторая группа представлена 98 неинфицированными ВИЧ детьми, из них 25 недоношенных детей, родившихся на сроке гестации 30 — 37 недель.

Обследование включило клинический анализ крови детей, обследование на внутриутробные инфекции (ПЦР-диагностика, определение специфических антител), иммунологическое исследование (определение количественных показателей клеточного иммунитета: CD3, CD4, CD8, CD4/CD8).

Проведено выявление антител к ВИЧ методом иммуноферментного анализа (ИФА), использовались следующие тест-системы: GENSCREEN HIV 1/2 (version 2), GENSCREEN PLUS HIV Ag-Ab («Bio-Rad Laboratories», Франция), Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab («Organon Teknika», Нидерланды), Эколаб-Вироностика IV («Эколаб», Россия), HIV Ag/Ab Combo («Abbott Laboratories», США); подтверждение специфичности антител к ВИЧ — реакцией иммунного блоттинга (ИБ) с использованием тест-систем NEW LAV BLOT 1 («Bio-Rad Laboratories», Франция), ВИЧ-1,2 + О-блот Авиценна («Авиценна» Медицинский центр», Россия).

Проведено определение ДНК ВИЧ методом ПЦР, у детей с диагностированной ВИЧ-инфекцией проведено определение числа копий РНК ВИЧ в плазме крови («вирусная нагрузка»).

Математическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., USA) с использованием параметрических и непараметрических методов статистики. Различия сравниваемых показателей считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Сравнение показателей клинического анализа крови доношенных и недоношенных детей I группы, а также сравнение показателей клинического анализа крови доношенных и недоношенных детей II группы различий между подгруппами не выявило. Средние значения показателей, определенные при проведении клинического анализа крови детей двух групп, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты клинического анализа крови детей первого года жизни, рожденных ВИЧ-инфицированными женщинами

Показатели	I группа		II группа	
	Колебания значений	$M \pm m_x$	Колебания значений	$M \pm m_x$
Гемоглобин, г/л	85 — 150	$113,7 \pm 1,0$	90 — 190	$119,7 \pm 0,7$
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	2,95 — 5,35	$4,27 \pm 0,05$	2,80 — 5,70	$4,16 \pm 0,02$
Цветовой показатель	0,64 — 1,11	$0,80 \pm 0,01$	0,74 — 1,00	$0,86 \pm 0,01$
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	3,82 — 33,30	$11,12 \pm 0,31$	5,40 — 24,50	$10,51 \pm 0,15$
Нейтрофилы:				
палочкоядерные, %	1,00 — 10,00	$3,00 \pm 0,29$	1,00 — 9,00	$2,62 \pm 0,07$
сегментоядерные, %	14,00 — 62,00	$29,68 \pm 1,17$	10,00 — 55,00	$27,98 \pm 0,29$
Эозинофилы, %	0,07 — 12,60	$2,10 \pm 0,28$	1,00 — 4,00	$1,10 \pm 0,02$
Базофилы, %	0,12 — 2,43	$1,18 \pm 0,16$	1,00	$1,00 \pm 0,00$
Лимфоциты, %	29,6 — 82,6	$59,12 \pm 0,88$	30,00 — 79,00	$62,07 \pm 0,35$
Моноциты, %	0,65 — 28,70	$7,38 \pm 0,35$	2,00 — 11,00	$6,10 \pm 0,07$
СОЭ, мм/ч	2 — 35	$8,8 \pm 1,0$	2 — 25	$7,2 \pm 0,2$

Установлено, что результаты клинического анализа крови ВИЧ-положительных детей демонстрировали более низкий уровень гемоглобина по сравнению с результатами клинического анализа крови ВИЧ-негативных детей ($p < 0,001$), а также более низкие значения цветового показателя ($p = 0,000000$), относительного содержания лимфоцитов ($p < 0,05$), но более высокий уровень эозинофилов ($p = 0,000000$) и моноцитов ($p < 0,001$).

У 27 (46,6%) детей I группы и у 25 (25,5%) детей II группы определялось снижение уровня гемоглобина крови ниже 110 г/л ($\chi^2 = 7,26$, $p < 0,01$). При этом достоверных различий между количеством детей в группах с гипохромией (снижение цветового показателя крови ниже 0,85) не выявлено: 40 детей (69,0%) и 58 детей (59,2%) соответственно.

Сравнение подгрупп доношенных детей I и II групп выявило постоянное, начиная с 5 месяцев, различие цветового показателя (рис. 1) ($p < 0,005$ в 6 месяцев, $p < 0,01$ в 9, 10, 12 месяцев, $p < 0,05$ в 5, 7, 8, 11 месяцев). С рождения и до 5 месяцев значения цветового показателя в двух группах были близкими по значению. Обращает на себя внимание то, что значения цветового показателя доношенных детей II группы в течение всего периода наблюдения сохранялись на одном уровне, в то время как у доношенных детей I группы наблюдалось его падение, начиная с 5 месяца жизни.

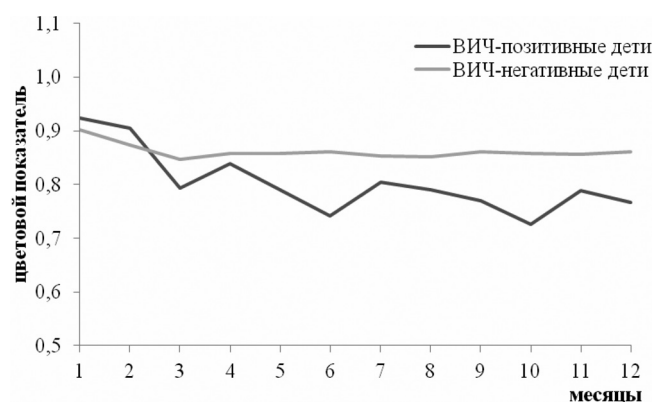


Рис. 1. Средние значения цветового показателя у доношенных детей, рожденных ВИЧ-положительными женщинами

В возрасте 1 месяц выявлено различное количество эритроцитов: у детей I группы — $3,73 \pm 0,28 \times 10^{12}/л$, у детей II группы — $4,11 \pm 0,08 \times 10^{12}/л$ ($p < 0,005$), также у ВИЧ-инфицированных детей имело место большее относительное содержание палочкоядерных нейтрофилов — $6,0 \pm 1,0\%$, в то время как у ВИЧ-негативных детей — $2,3 \pm 0,2\%$ ($p < 0,01$). В возрасте 6 месяцев в группах выявлялись различные уровни гемоглобина — $106,0 \pm 3,4$ г/л в I группе, $118,7 \pm 1,1$ г/л во II группе ($p < 0,005$). Количество гемоглобина также было различным в 12 месяцев — $106,3 \pm 3,4$ г/л в I группе, во II группе — $117,0 \pm 0,8$ г/л ($p < 0,001$).

При сравнении анализов периферической крови недоношенных детей двух групп выявлены непостоянные различия, а именно: различие в уровне цветового показателя в 5 ($0,75 \pm 0,11$ и $0,86 \pm 0,01$; $p < 0,05$) и 10 месяцев ($0,73 \pm 0,03$ и $0,87 \pm 0,01$, $p < 0,05$); в 5 месяцев — также эозинофилов ($7,3 \pm 5,3$ и $1,1 \pm 0,1$, $p < 0,05$). Кроме того, в 12 месяцев различались уровни лимфоцитов ($52,5 \pm 2,6$ и $62,5 \pm 1,6$, $p < 0,005$). В 1 — 4, 6 — 9 и в 11 месяцев жизни различия не выявлялись.

В группе ВИЧ-инфицированных детей положительные результаты ПЦР ДНК ВИЧ впервые определялись при проведении анализа в возрасте $3,2 \pm 0,2$ месяца (диапазон колебаний — 1 — 7,5 мес.). Количество копий РНК у детей данной категории составило 400 — 10000000 ($1061781,0 \pm 194733,1$). После назначения детям данной группы высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) — средний возраст начала терапии $7,9 \pm 0,7$ мес. — отмечено уменьшение количества копий РНК в крови у ВИЧ-положительных детей (рис. 2).

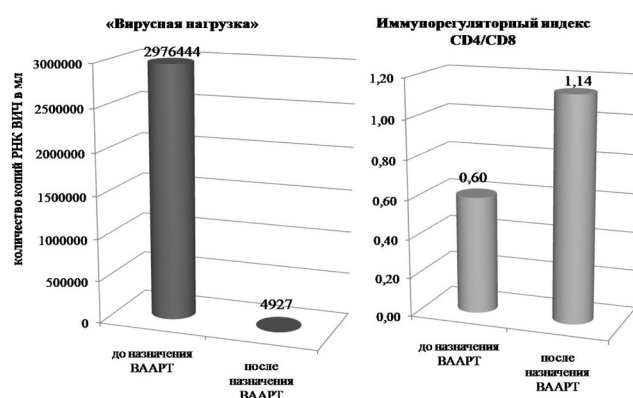


Рис. 2. Влияние ВААРТ на вирусную нагрузку и показатели иммунограммы у ВИЧ-положительных детей первого года жизни

Всего на внутриутробные инфекции было обследовано 37 детей I группы, в том числе 18 детям проведена ПЦР-диагностика, 23 детям — определение специфических антител. У 7 (38,9%) из 18 обследованных детей были выявлены положительные ПЦР при обследовании на ЦМВ, у 1 ребенка (5,6%) — при обследовании на герпес-вирусную инфекцию и у 1 ребенка (5,6%) — при обследовании на токсоплазмоз. У 16 (69,6%) из 23 детей определялись антитела класса G к ЦМВ, у 4 детей (17,4%) — к вирусу герпеса 1 и 2 типов. У 4 детей (17,4%) определены IgM к ЦМВ и у 1 ребенка (5,6%) — к *Toxoplasma gondii*.

Во II группе на внутриутробные инфекции было обследовано 39 детей, в том числе было проведено 27 ПЦР и 12 определений антител. У 2 (7,4%) детей из 27 ПЦР на ЦМВ была положительной — реже, чем у детей I группы ($\chi^2 = 6,69$, $p < 0,01$) (рис. 3). Ни у одного ребенка при обследовании на герпес-

вирусную инфекцию и на токсоплазмоз результаты ПЦР не были положительными. У 4 детей (33,3%) из 12 определены IgG к ЦМВ ($\chi^2 = 4,23$, $p < 0,05$) и у 4 (33,3%) — к вирусу герпеса 1 и 2 типов. У 2 (16,7%) детей выявлены IgM к возбудителю токсоплазмоза и ни у одного ребенка — к цитомегаловирусу.

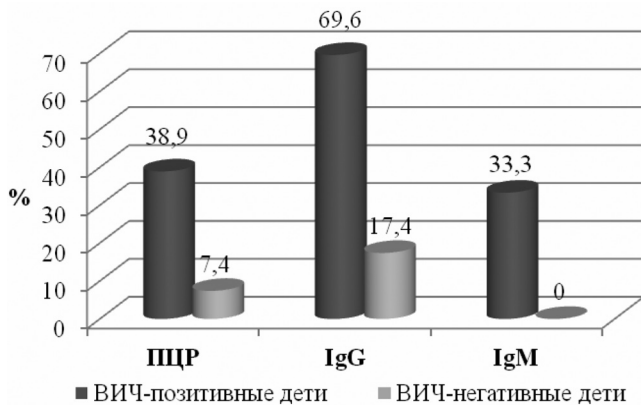


Рис. 3. Определение маркеров цитомегаловирусной инфекции у детей, рожденных ВИЧ-позитивными женщинами

В среднем элиминация антител к вирусу гепатита С (aHCV) у ВИЧ-позитивных детей происходила раньше ($p < 0,001$), возможно, вследствие активации иммунной системы. Сроки элиминации aHCV составили: в I группе — 4–12 мес. ($8,8 \pm 0,4$ мес.), во II группе — 3–12 мес. ($10,4 \pm 0,3$ мес.). К году жизни элиминация aHCV не произошла у 19 детей I группы (36,5% детей-носителей материнских aHCV) и у 28 детей II группы (32,6% детей-носителей материнских aHCV). При этом установлено, что чем более длительным было заболевание ВИЧ-инфекцией у матерей ВИЧ-негативных детей, тем позднее происходила у этих детей элиминация aHCV ($r = 0,67$, $p < 0,005$). У 1 ребенка II группы до 10 месяцев персистировали материнские антитела к вирусу гепатита В.

Определены следующие средние параметры иммунограммы у ВИЧ-позитивных детей: CD3-лимфоциты — 48,0–87,0% ($66,6 \pm 0,8\%$), 1806–15117 кл/мкл ($4616,3 \pm 212,6$ кл/мкл); CD4-лимфоциты — 11,0–54,0% ($31,4 \pm 0,9\%$), 606,0–5454,0 кл/мкл ($2160,5 \pm 108,8$ кл/мкл); CD8-лимфоциты — 16,0–73,0% ($34,3 \pm 1,3\%$), 949,0–6519,0 кл/мкл ($2303,9 \pm 144,1$ кл/мкл); CD4/CD8 — 0,15–3,00 ($1,0 \pm 0,1$). Таким образом, средние значения относительного количества CD3-лимфоцитов находились на верхней границе нормы, абсолютного количества — выше нормы (средние значения находились в пределах, соответствующих отсутствию иммуносупрессии). Средние значения относительного количества CD4-лимфоцитов — ниже нормы, абсолютного — в пределах нормы. Средние значения как относительного, так и абсолютного количества

CD8-лимфоцитов превышали норму. Иммунорегуляторный индекс — ниже нормы.

Анализ иммунограмм детей I группы, проведенных в 6, 9 и 12 месяцев, позволил выявить следующие закономерности. Отмечалась тенденция к уменьшению доли образцов крови с нормальным относительным количеством CD3-лимфоцитов: так, количество образцов крови с их нормальным относительным количеством в 6 месяцев составило половину, тогда как в 12 месяцев — лишь 1/3 образцов. При этом с возрастом детей увеличивалась доля образцов крови с повышенным относительным содержанием CD3-лимфоцитов, что в 6 месяцев составило 36,0%, в 9 месяцев — 50,0%, а в 12 месяцев — 59,1%. При этом с течением времени возрастала доля образцов крови с нормальным абсолютным содержанием CD3-лимфоцитов — от 16,0% до 47,6% ($\chi^2 = 5,39$, $p < 0,05$) и уменьшалась — с повышенным абсолютным количеством CD3-лимфоцитов — с 84,0% до 52,4% ($\chi^2 = 5,39$, $p < 0,05$). Только у одного ребенка в возрасте 9 месяцев абсолютное количество CD3-лимфоцитов было пониженным.

Во все указанные возрастные периоды сохранялось преобладание образцов крови с пониженным относительным содержанием CD4-лимфоцитов (в диапазоне 70,8–86,6% образцов крови в данный возрастной период). У одного ребенка в 9 месяцев было определено понижение относительного количества CD4-лимфоцитов в крови. Во все возрастные периоды преобладали образцы крови с нормальным абсолютным количеством CD4-лимфоцитов, что составило 43,3–47,6%. Отмечалась тенденция к увеличению доли образцов крови с пониженным абсолютным количеством CD4-лимфоцитов и к уменьшению доли образцов крови с повышенным абсолютным количеством CD4-лимфоцитов.

У детей всех возрастных групп преобладали образцы крови с повышенным относительным количеством CD8-лимфоцитов, что составило 70,6–90,9% всех образцов. У 1 ребенка в 6 месяцев и у 1 ребенка в 12 месяцев выявлено пониженное относительное количество CD8-лимфоцитов. Во всех остальных случаях определялось нормальное относительное содержание CD8-лимфоцитов. Подобные соотношения сохранялись при анализе абсолютного количества CD8-лимфоцитов, где доля образцов с повышенным их содержанием составила 82,4–90,9%. Ни у одного ребенка не наблюдалось понижения абсолютного количества CD8-лимфоцитов.

Во все возрастные периоды преобладали пониженные значения иммунорегуляторного индекса (72,2% в 6 месяцев, с увеличением их доли в 9 месяцев до 81,8% и в 12 месяцев — до 93,8%). Кроме 1 образца крови у шестимесячного ребенка и 1 — у девятимесячного ребенка, чьи иммунорегуляторные индексы были повышены, в остальных случаях этот показатель имел нормальные значе-

ния. Отмечалось увеличение значений иммуно-регуляторного индекса после назначения ВААРТ детям с ВИЧ-инфекцией от $0,60 \pm 0,10$ до $1,14 \pm 0,21$ ($p < 0,05$) (см. рис. 2).

Выявление суммарного спектра антител против антигенов ВИЧ методом ИФА демонстрировало положительные результаты во все возрастные периоды у детей I группы. Во II группе у детей имелись в единичных случаях и отрицательные результаты ИФА, при этом различие становилось достоверным с 9 месяцев, когда доля отрицательных результатов ИФА у ВИЧ-негативных детей составляла до 16,9% ($\chi^2 = 4,29$, $p < 0,05$). В 12 месяцев у детей II группы продолжалось увеличение доли отрицательных результатов ИФА ВИЧ до 37,8% ($\chi^2 = 5,14$, $p < 0,05$).

Определение антител к отдельным антигенам вируса проводилось методом иммунного блоттинга. Следует отметить, что процент положительных результатов анализов иммунного блоттинга у детей

I группы с возрастом увеличивался или оставался на приблизительно одинаковом уровне (gag40, gag24, pol34). В то же время процент выявления положительных результатов определения антител к отдельным антигенам ВИЧ у детей II группы с течением времени неуклонно снижался.

При сравнении результатов иммунного блоттинга различие между показателями детей двух групп в возрасте 6 месяцев отсутствовало. В 9 месяцев становилось статистически достоверным более частое выявление положительных результатов выявления антител ко всем антигенам ВИЧ у детей I группы. Показатели иммунного блоттинга представлены в таблицах 2 и 3.

Так, у ВИЧ-позитивных детей в 9 месяцев антитела к env160, env110/120, env41 выявлялись чаще, чем у ВИЧ-негативных детей ($\chi^2 = 32,45$, $p = 0,0000$; $\chi^2 = 16,66$, $p = 0,0000$; $\chi^2 = 4,53$, $p < 0,05$ соответственно); также — антитела к gag55, gag40, gag24

Таблица 2

Процентное соотношение результатов иммунного блоттинга у ВИЧ-инфицированных детей

Гены генома ВИЧ		6 месяцев			9 месяцев			12 месяцев		
		+	±	–	+	±	–	+	±	–
ENV	160	70,0	26,7	3,3	90,9	9,1	0,0	85,7	0,0	14,3
	110/120	36,7	40,0	23,3	54,5	36,4	9,1	85,7	14,3	0,0
	41	20,0	60,0	20,0	40,9	54,5	4,6	57,1	42,9	0,0
	55	56,7	40,0	3,3	66,7	28,5	4,8	85,7	0,0	14,3
GAG	40	40,0	30,0	30,0	40,9	36,4	22,7	42,9	42,9	14,2
	24	83,3	16,7	0,0	77,3	18,2	4,5	100,0	0,0	0,0
	18	13,3	36,7	50,0	13,6	50,0	36,4	42,8	28,6	28,6
	68	63,4	33,3	3,3	77,3	18,2	4,5	85,7	0,0	14,3
POL	52	33,3	53,4	13,3	54,5	40,9	4,5	85,7	0,0	14,3
	34	63,4	33,3	3,3	54,5	40,9	4,5	57,1	42,9	0,0
Результат		60,0	40,0	0,0	77,3	22,7	0,0	71,4	28,6	0,0

Таблица 3

Процентное соотношение результатов иммунного блоттинга у ВИЧ-негативных детей

Гены генома ВИЧ		6 месяцев			9 месяцев			12 месяцев		
		+	±	–	+	±	–	+	±	–
ENV	160	70,4	27,3	2,3	24,1	58,2	17,7	3,2	47,6	49,2
	110/120	34,1	54,5	11,4	4,7	27,9	67,4	0,0	8,6	91,4
	41	38,6	50,0	11,4	10,5	38,4	51,1	1,4	14,3	84,3
	55	65,9	25,0	9,1	31,6	53,2	15,2	12,7	50,8	36,5
GAG	40	54,6	31,8	13,6	14,1	35,9	50,0	0,0	29,0	71,0
	24	79,5	18,2	2,3	45,9	50,6	3,5	15,7	62,9	21,4
	18	6,8	43,2	50,0	3,5	26,7	69,8	0,0	28,6	71,4
	68	59,1	38,6	2,3	7,7	78,2	14,1	1,6	48,4	50,0
POL	52	40,9	56,8	2,3	2,5	57,0	40,5	1,6	19,0	79,4
	34	59,1	34,1	6,8	11,8	62,3	25,9	5,6	22,6	71,8
Результат		47,7	50,0	2,3	9,3	90,7	0,0	1,4	90,0	8,6

($\chi^2=8,55$, $p<0,05$; $\chi^2=7,71$, $p<0,01$; $\chi^2=6,90$, $p<0,01$ соответственно), антитела к **gag18 чаще не определялись** в 9 месяцев у детей II группы ($\chi^2=8,38$, $p<0,005$). С большей достоверностью чаще определялись антитела к антигенам, отвечающим за продукцию ферментных систем вируса: pol68, pol52, pol34 ($\chi^2=46,91$, $p=0,0000$; $\chi^2=38,99$, $p=0,0000$; $\chi^2=19,58$, $p=0,0000$ соответственно).

В 12 месяцев различия в частоте выявления антител к антигенам ВИЧ у детей двух групп усугублялись. Так, чаще выявлялись антитела к env160 ($\chi^2=42,40$, $p=0,0000$), env110/120 ($\chi^2=65,07$, $p=0,0000$), env41 ($\chi^2=32,53$, $p=0,0000$); к gag55 ($\chi^2=20,99$, $p=0,0000$), gag40 ($\chi^2=27,78$, $p=0,0000$), gag24 ($\chi^2=25,24$, $p=0,0000$), gag18 ($\chi^2=31,22$, $p=0,0000$); к pol68 ($\chi^2=50,28$, $p=0,0000$), pol52 ($\chi^2=49,54$, $p=0,0000$), pol34 ($\chi^2=48,37$, $p=0,0000$).

Общий результат иммунного блоттинга расценивался как положительный чаще в группе ВИЧ-инфицированных детей — и в 9 месяцев ($\chi^2=45,50$, $p=0,0000$), и в 12 месяцев ($\chi^2=43,40$, $p=0,0000$). Следует подчеркнуть, что результаты иммунного блоттинга в 3 месяца у детей I группы реже расценивались как положительные ($\chi^2=7,29$, $p<0,01$) и чаще — как неопределенные ($\chi^2=9,16$, $p<0,005$) по сравнению с результатами анализов детей II группы, то есть происходила более быстрая элиминация материнских антител к ВИЧ.

Выводы

1. В периферической крови у детей с подтвержденной ВИЧ-инфекцией отмечен более низкий уровень гемоглобина, более низкие значения цветового показателя, относительного содержания лимфоцитов, но более высокий уровень эозинофилов и моноцитов по сравнению с результатами анализа крови ВИЧ-негативных детей.

2. Подтверждена информативность ПЦР-диагностики перинатальной ВИЧ-инфекции с первых месяцев жизни, ИФА и ИБ — с возраста 9 месяцев.

3. У ВИЧ-позитивных детей первого года жизни установлено уменьшение количества копий РНК ВИЧ и увеличение значений иммунорегуляторного индекса в результате назначения ВААРТ.

Литература

1. Рахманова, А.Г. ВИЧ-инфекция у детей / А.Г. Рахманова, Е.Е. Воронин, Ю.А. Фомин. — СПб.: Питер, 2003. — 448 с.

2. Рахманова, А.Г. ВИЧ-инфекция у детей / А.Г. Рахманова [и др.] // Детские инфекции. — 2004. — № 4. — С. 7–10.

3. Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2012. — Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). — 2012. — 212 с.

4. Saharan, S. Perinatal HIV / S. Saharan [et al.] // Indian Journal Of Pediatrics. — 2008. — V. 75 (4). — P. 359–362.

5. Тимченко, В.Н. ВИЧ-инфекция у детей и подростков Санкт-Петербурга / В.Н. Тимченко [и др.] // Детские инфекции. — 2010. — Т. 9, № 1. — С. 13–17.

6. Петрова, А.Г. Клинико-иммунологические аспекты перинатальной ВИЧ-инфекции у детей — оптимизация диагностики, лечения и реабилитации : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.Г. Петрова. — Красноярск, 2008. — 47 с.

7. Актуальные вопросы профилактики ВИЧ-инфекции в педиатрической практике (учебно-методическое пособие). — Орел: изд-во ОРАГС, 2002. — 80 с.

8. Tiemessen, C.T. Immune pathogenesis of pediatric HIV-1 infection / C.T. Tiemessen, L. Kuhn // Current HIV/AIDS reports. — 2006. — V. 3 (1). — P. 13–19.

9. Лобзин, Ю.В. Диспансеризация детей, рожденных ВИЧ-инфицированными матерями : учебно-методическое пособие для врачей / Ю.В. Лобзин. — СПб., 2004. — 28 с.

10. Козаченко, Н.В. Состояние иммунной системы ВИЧ-инфицированных детей / Н.В. Козаченко, М.И. Годунова // Сборник тезисов международной конференции: Вторая конференция по вопросам ВИЧ/СПИД в Восточной Европе и Центральной Азии (ЕЕСААС 2008). — М., 3–5 мая 2008. — С. 166.

11. Шостакович-Корецкая, Л.Р. Особенности течения перинатальной ВИЧ-инфекции у детей на первом году жизни при проведении антиретровирусной профилактики / Л.Р. Шостакович-Корецкая [и др.] // Сборник тезисов международной конференции: Вторая конференция по вопросам ВИЧ/СПИД в Восточной Европе и Центральной Азии (ЕЕСААС 2008). — М., 3–5 мая 2008. — С. 149.

12. Денисенко, В.Б. Клинико-иммунологическая характеристика ВИЧ-инфекции у детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук / В.Б. Денисенко. — Ростов-на-Дону, 1997. — 24 с.

13. Москалёва, Е.В. Клинико-иммунологические особенности ВИЧ-инфекции при перинатальном инфицировании : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.В. Москалева — Красноярск, 2007. — 24 с.

14. Юдина, С.М. ВИЧ-инфекция : учебно-методическое пособие для студентов и врачей / С.М. Юдина, О.Н. Поповцева, Т.А. Звягинцева — Курск: КГМУ, 2004. — 32 с.

15. Shearer, W.T. CD4/CD8 T-cell ratio predicts HIV infection in infants: the National Heart, Lung, and Blood Institute P2C2 Study / W.T. Shearer [et al.] // The Journal Of Allergy And Clinical Immunology. — 2007. — V. 120 (6). — P. 1449–1456.

16. Казарян, М.С. Частота обнаружения маркеров парентеральных вирусных гепатитов и оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных беременных и их новорожденных детей / М.С. Казарян [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2006. — № 6. — С. 16–20.

17. Maródi L. Neonatal Innate Immunity to Infectious Agents / L. Maródi // Infection and immunity. — 2006. — V. 74, № 4. — P. 1999–2006.

Авторский коллектив:

Тимченко Владимир Николаевич — заведующий кафедрой инфекционных заболеваний у детей им. профессора М.Г. Данилевича Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)295-26-55, e-mail: vladimirtimchenko@yandex.ru

Архипова Юлия Анатольевна — врач-невролог Специализированного дома ребенка № 16 (психоневрологический), к.м.н.; тел.: 8(812)542-62-25, e-mail: juliarkh@mail.ru

Джангавадзе Нугзар Давидович — главный врач Специализированного дома ребенка № 16 (психоневрологический), к.м.н.; тел. 8(812)542-04-19, e-mail: domr16@zdrav.spb.ru

ЦИТОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

М.С. Селькова

Научно-исследовательский институт гриппа, Санкт-Петербург

Flow cytometry analysis of cytotoxic cells in patients with chronic hepatitis C

M.S. Selkova

Science Research Institute of Influenza, Saint-Petersburg

Резюме. У пациентов с хроническим гепатитом С проведено исследование содержания различных популяций цитотоксических лимфоцитов методом проточной цитометрии. Выявлено значительное снижение функционального потенциала НК-клеток при определении экспрессии CD 107a на фоне нормального содержания НК- и NKT-клеток независимо от молекулярно-биологических характеристик вирусной инфекции.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит С, НК-клетки, NKT-клетки, активированные НК-клетки.

Введение

Отсутствие специфической профилактики, склонность к первично-хроническому течению, недостаточная эффективность противовирусной терапии у значительного числа пациентов делает хронический гепатит С (ХГС) актуальной медицинской и социальной проблемой.

Использование иммунологических показателей в совокупности с молекулярно-биологическими характеристиками вирусного процесса может быть решающим в выборе терапии данного заболевания.

Изучение клеточных факторов противовирусного иммунитета является перспективным с точки зрения разработки новых подходов к иммуноориентированной терапии ХГС.

Известно, что при инфекции, вызванной вирусом гепатита С (ВГС), гуморальный иммунитет не обладает существенным протективным эффектом, а определение антител имеет лишь диагностическое значение. Основной противовирусный эффект оказывают цитотоксические клетки, в том числе натуральные киллеры (НК-клетки) и система интерферонов. В последнее время большое значение уделяется не только количественным оценкам субпопуляционного состава лимфоцитов, но и функциональным характеристикам этих клеток при различных вирусных заболеваниях, в том числе при ХГС [1, 4].

Abstract. In patients with chronic hepatitis C study the content of different populations of cytotoxic lymphocytes by flow cytometry. There was a significant decrease in functional capacity of NK-cells in determining the expression of CD 107 a picture of the regular numerical index NK-and NKT-cells independently of molecular-biological characteristics of viral infection.

Key words: chronic hepatitis C, NK-cells, NKT-cells, activated NK-cells.

Для НК-клеток (CD16⁺ CD56⁺) таким функциональным маркером может служить экспрессия CD 107a на поверхности клеток. CD 107a представляет собой гликозилированный протеин, ассоциированный с лизосомальными гранулами (lysosome-associated membrane protein LAMP-protein). При активации НК-клеток протеин перемещается на поверхность (экстернализируется) и определяется методом проточной цитометрии как маркер активации НК-клеток [3].

В литературе имеются данные о корреляции содержания НК-клеток с уровнем вирусной нагрузки [5]. Однако существуют и другие данные, указывающие, что изменение численного состава, в том числе активированных НК-клеток, при ХГС не изменяется [6].

Кроме НК-клеток с фенотипом CD16⁺ CD56⁺, значительный интерес представляет изучение клеток с фенотипом CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺ (NKT-клетки). Поскольку эти клетки несут на своей поверхности Т-клеточный рецептор (TCR), их цитотоксичность имеет антиген-зависимый характер, в отличие от антиген-независимого действия НК-клеток [10]. NKT-клетки, наряду с НК-клетками, препятствуют развитию фиброза печени за счет раннего уничтожения поврежденных клеток [7].

Цель исследования — оценить содержание и функциональную активность цитотоксических лимфоцитов у пациентов с ХГС.

Материалы и методы

В исследование был включен 81 пациент с диагнозом ХГС в возрасте от 20 до 62 лет (средний возраст $36,5 \pm 8,7$ лет), из них 54 (66,7%) мужчины и 27 (33,3%) женщины. Группу сравнения составили 20 здоровых доноров.

Диагноз ХГС был подтвержден обнаружением антител к вирусу гепатита С (HCVAb) в сыворотке крови. Суммарные антитела к ВГС определяли методом твёрдофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на тест-системах фирмы «Вектор» (Новосибирск, Россия). Результаты реакции ИФА оценивали на микропланшетном фотозлектроколориметре ELx 800 (Bio-tek, США).

Выявление РНК ВГС в крови с установлением генотипа и вирусной нагрузки проводили методом **real-time ПЦР с использованием наборов «Ампли-сенс»** (Москва, Россия) на амплификаторе **Strato-gene** (США).

Иммунологическое обследование пациентов с ХГС включало определение относительного и абсолютного содержания НК-клеток, НКТ-клеток методом проточной цитометрии. В составе популяции НК-клеток отдельно оценивали содержание клеток, несущих CD107a, экспрессирующихся при активации. Кровь для исследования забирали после пункции кубитальной вены. Образцы окрашивали моноклональными антителами против CD3, CD16, CD56, CD107a (все Becton Dickinson, США), затем инкубировали с лизирующим раствором (Becton Dickinson, США). Анализ флуоресценции осуществлен при помощи проточного цитофлюориметра FACS Canto II (Becton Dickinson, США). Для этого проводили гейтирование лимфоцитов в координатах прямого и бокового светорассеяния FSC — SSC. Среди событий из гейта лимфоцитов НК-клетки выделяли по фенотипу CD3⁺CD16⁺CD56⁺, НКТ-клетки — по фенотипу CD3⁺CD16⁺CD56⁺. Также оценивали количество НК-клеток периферической крови, экспрессирующих CD107a (CD3⁺CD16⁺CD56⁺CD107a).

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием программы AtteStat. Значения выборок представлены как среднее значение, стандартное отклонение, 95% доверительный интервал среднего. Сравнительный анализ результатов вычисляли при помощи U-теста Манна — Уитни и критерия Вилкоксона для независимых выборок. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии различий и влияний) принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Клиническая характеристика пациентов

У большинства пациентов причиной обращения в отделение послужило выявление HCVAb при

скрининговом обследовании. Жалобы предъявляли лишь 40,7% пациентов (33 человека). Большинство из них (54,5%) отмечали немотивированную слабость и 12,1% — повышенную утомляемость. Кроме того, пациенты жаловались на снижение аппетита (12,1%), боли и/или тяжесть в правом подреберье (75,6%), изжогу и отрыжку (18%). Двое пациентов указывали на повышенную кровоточивость, проявляющуюся у одного из них носовыми кровотечениями, а у другого — повышенной кровоточивостью десен. На горечь во рту жаловался один пациент (3%), на субфебрилитет — 2 (6%), на периферические отеки — трое (9,1%) и на кожный зуд — трое пациентов (9,1%).

Полученные данные свидетельствуют о преимущественно неспецифической клинической картине ХГС.

При объективном клиническом обследовании у 60 пациентов (74,1%) выявлена гепатомегалия, в 19,8% случаев сочетавшаяся со спленомегалией, подтвержденные при ультразвуковом исследовании. Следует отметить, что у обследованных пациентов отсутствовала желтушность кожных покровов и признаки портальной гипертензии.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о малосимптомном течении ХГС. Симптомы заболевания, на которые указывали пациенты, носили неспецифический характер. Основная причина их обращения к врачу-инфекционисту — случайное выявление HCVAb при скрининговых исследованиях.

При анализе возможных путей инфицирования были получены следующие сведения. У 9 пациентов (11,1%) ранее была проведена гемотрансфузия, у 4 пациентов (4,9%) был эпизод донорства крови. 19 пациентов указали, что когда-либо употребляли внутривенно психоактивные вещества (23,5%). 5 пациентов указали на посещение стоматолога с проведением инвазивных процедур (6,2%), а 12 пациентов связали свое заражение с другими медицинскими манипуляциями (14,8%). У 6 пациентов заражение можно было ассоциировать с татуажем (7,4%). Один пациент указал на половой путь инфицирования (1,2%). 2 человека из группы оказались медицинскими работниками (2,5%). У 23 пациентов (28,4%) даже при активном расспросе установить предполагаемую причину инфицирования не удалось.

Молекулярно-биологические характеристики вирусного процесса

Генотипирование ВГС проведено у всех пациентов. В зависимости от генотипа пациенты распределились следующим образом: 1a генотип встречался у 2 пациентов (2,5%), 1b генотип — у 41 (50,6%), 2 генотип — у 3 (3,7%), 3a генотип реги-

стрировался у 32 пациентов (39,3%), сочетание 2 генотипов было отмечено у 3 пациентов (3,7%): 1в и 1а — у 2 пациентов, сочетание 1в и 3а — у 1 пациента.

Полученные данные свидетельствуют о доминировании ВГС 1в генотипа среди обследованных пациентов с ХГС.

Уровень вирусной нагрузки определен у 71 пациента. У 42 из них (59,2%) количество копий РНК в плазме крови трактовали как высокое (>800 000 МЕ/мл). Соответственно, у остальных (40,8%) пациентов уровень вирусной нагрузки был низким (<800 000 МЕ/мл).

Иммунологические параметры обследованных пациентов

Среднее значение относительного содержания НК-клеток у пациентов всей выборки составило 12,409% (стандартное отклонение (СО) 4,53%) от общего количества лимфоцитов (нормальные значения 4,2–25,3%) (табл. 1).

Абсолютное значение НК-клеток — 240 (СО 120) клеток в микролитре (кл/мкл) (нормальные значения 95 — 640 кл/мкл) (табл. 2). Статистически достоверных различий в содержании НК-клеток, как в их относительном, так и абсолютном значении, у пациентов с ХГС и доноров выявлено не было.

Таблица 1

Содержание НК-клеток (относительное) и их активных форм у пациентов с ХГС в зависимости от молекулярно-биологических характеристик

Фенотип клеток	NK (CD16+ CD56+) нормальные значения 4,2–25,3%						NKA (CD3-CD16+ CD56+ CD107a) нормальные значения 0,5–2,0%					
	М	СО	ДИ нижний 95%	ДИ верхний 95%	min	max	М	СО	ДИ нижний 95%	ДИ верхний 95%	min	max
Все пациенты, n=81	12,40	4,53	11,34	13,47	3,7	26	0,26**	0,02	0,21	0,31	0,1	1,2
1 генотип, n=43	12,81	0,81	11,22	14,40	4,42	26	0,26**	0,20	0,19	0,32	0,1	1
3 генотип, n=32	12,01	0,73	10,57	13,45	10,57	13,45	0,27**	0,23	0,18	0,36	0,1	1,2
Низкий уровень, n=42	13,11	0,92	11,30	14,92	4,42	23,9	0,22**	0,14	0,16	0,28	0,1	0,6
Высокий уровень, n=29	12,07	0,68	10,74	13,41	6	23	0,27**	0,25	0,19	0,35	0,1	1,2
Доноры, n=20	11,88	4,55	9,94	13,83	4,36	20,3	1,07	0,56	0,83	1,31	0,4	2,1

М — среднее значение, СО — стандартное отклонение, ДИ — доверительный интервал среднего, min — минимальное значение, max — максимальное значение, * — $p < 0,001$ по сравнению с группой доноров.

Таблица 2

Содержание НК-клеток (абсолютное количество клеток) и их активных форм у пациентов с ХГС в зависимости от молекулярно-биологических характеристик

Фенотип клеток	NK (CD16+ CD56+) нормальные значения 95–640 кл/мкл						NKA (CD3-CD16+ CD56+ CD107a) нормальные значения 8–430 кл/мкл					
	М	СО	ДИ нижний 95%	ДИ верхний 95%	min	max	М	СО	ДИ нижний 95%	ДИ верхний 95%	min	max
Все пациенты, n=81	240	120	210	0,27	49	624	0,601**	0,685	0,4	0,7	0,09	46
1 генотип, n=43	240	120	200	280	51	597	0,67**	0,8	0,41	0,92	0,12	46
3 генотип, n=32	230	120	180	280	49	624	0,58**	0,5	0,38	0,77	0,097	18
Низкий уровень, n=42	210	90	180	240	49	462	0,54**	0,79	0,27	0,83	0,12	46
Высокий уровень, n=29	305	140	240	360	128	624	0,701**	0,54	0,48	0,91	0,12	21
Доноры, n=20	223	102	179	266	99	441	20,7	12,9	15,1	26,2	6	54

М — среднее значение, СО — стандартное отклонение, ДИ — доверительный интервал среднего, min — минимальное значение, max — максимальное значение, * — $p < 0,001$ по сравнению с группой доноров.

Относительное количество **НКТ-клеток** составило 5,911% (СО 9,04%) (нормальные значения 1,3–10,2%) (табл. 3) и было достоверно ниже, чем в группе сравнения ($p<0,05$).

Таблица 3

**Содержание НКТ-клеток (относительное)
у пациентов с ХГС в зависимости
от молекулярно-биологических характеристик**

Фенотип клеток	НКТ (CD3+ CD16+ CD56+) нормальные значения 1,3–10,2%					
	М	СО	ДИ нижний 95%	ДИ верхний 95%	min	max
Генотип вируса, уровень нагрузки/значения клеток (%)						
Все пациенты, n = 81	5,91*	1,08	3,79	8,02	1	60
1 генотип, n = 43	6,1	1,49	3,16	9,03	1	60
3 генотип, n = 32	4,27	0,90	2,49	6,04	1	24
Низкий уровень, n = 42	5,52	1,92	1,75	9,28	1	46,6
Высокий уровень, n = 29	6,49	1,53	3,48	9,49	1	60
Доноры, n = 20	6,04	3,02	4,66	7,41	1,2	11

М — среднее значение, СО — стандартное отклонение, ДИ — доверительный интервал среднего, min — минимальное значение, max — максимальное значение, * — $p<0,05$ по сравнению с группой доноров.

Абсолютное содержание **НКТ-клеток** составило 100 (СО 10) кл/мкл (нормальные значения 33–221 кл/мкл) и не отличалось от аналогичного показателя в группе сравнения (табл. 4).

При определении активированных НК-клеток с фенотипом CD3⁺CD16⁺CD56⁺CD107a, их относительное содержание составило 0,261% (СО 0,021%) (нормальные значения 0,5–2%) (см. табл. 1). При исследовании активированных клеток у здоровых доноров их уровень был достоверно выше ($p<0,001$). Абсолютное количество этих клеток составило 0,601 (СО 0,685) кл/мкл (нормальные значения 8–43 кл/мкл) (см. табл. 2). Это свидетельствует о значительном снижении относительного и абсолютного содержания активированных клеток у пациентов с ХГС по сравнению с группой доноров ($p<0,001$).

Для определения влияния молекулярно-биологических особенностей инфекционного процесса на систему цитотоксических клеток мы поделили пациентов на различные группы. В одну группу вошли пациенты, инфицированные вирусом 1 генотипа, во вторую группу — пациенты, инфицированные вирусом 3 генотипа. Данное деление определялось тем, что при планировании противовирусной терапии, ее сроков учитывается генотип возбудителя (1 или 3 генотип).

*Особенности содержания цитотоксических
клеток у пациентов с различными
характеристиками молекулярно-
биологического процесса*

У пациентов, инфицированных ВГС 1 генотипа, относительное количество **НК-клеток** составило 12,81% (СО 0,81%) (см. табл. 1). При инфицировании ВГС 3 генотипа — 12,01% (СО 0,73%) (см. табл. 1). Абсолютные значения данного показателя — 240 (СО 120) кл/мкл при 1 генотипе и 230 (СО 120) кл/мкл при 3 генотипе (см. табл. 2).

У пациентов с высокой вирусной нагрузкой содержание НК-клеток составило 12,07% (0,68%),

Таблица 4

**Содержание НКТ-клеток (абсолютное количество клеток) у пациентов с ХГС
в зависимости от молекулярно-биологических характеристик**

Фенотип клеток	НКТ (CD3+ CD16+ CD56+) нормальные значения 33–221 кл/мкл					
	М	СО	ДИ нижний 95%	ДИ верхний 95%	min	max
Генотип вируса, уровень нагрузки/значения клеток (кл/мкл)						
Все пациенты, n = 81	100	10	70	100	21	713
1 генотип, n = 43	90	80	60	110	9	362
3 генотип, n = 32	70*	80	43	100	19	387
Низкий уровень, n = 42	90	97	68	110	21	271
Высокий уровень, n = 29	110	140	57	170	24	713
Доноры, n = 20	121	84	85	157	18	352

М — среднее значение, СО — стандартное отклонение, ДИ — доверительный интервал среднего, min — минимальное значение, max — максимальное значение, * — $p<0,05$ по сравнению с группой доноров.

у больных с низким уровнем вирусной нагрузки — 13,11% (СО 0,92%) (см. табл. 1). Абсолютное количество **НК-клеток у этих пациентов составляло 210 (СО 90) кл/мкл** при высокой вирусной нагрузке и 305 (СО 140) кл/мкл при низкой вирусной нагрузке (см. табл. 2).

Из полученных данных видно, что существенных различий в содержании **НК-клеток у пациентов**, инфицированных разными генотипами ВГС и имеющих различный уровень вирусной нагрузки в крови, не выявлено.

У пациентов, инфицированных 1 генотипом ВГС, относительное количество **НКТ-клеток** составило 6,1% (СО 1,49%), 90 (СО 80) кл/мкл (см. табл. 3). При инфицировании 3 генотипом — 4,27% (СО 0,90%), 70 (СО 80) кл/мкл (см. табл. 4).

У пациентов с высокой вирусной нагрузкой содержание **НКТ-клеток** определялось равным 6,49% (1,53%), с низким уровнем вирусной нагрузки — 5,52% (СО 1,92%) (см. табл. 3). Абсолютные значения **НКТ-клеток составили 90 (СО 97) кл/мкл у пациентов** с высоким уровнем вирусной нагрузки и 110 (СО 140) кл/мкл у пациентов с низким уровнем вирусной нагрузки (см. табл. 4).

У пациентов, инфицированных ВГС 1 генотипа, содержание активированных **НК-клеток с фенотипом CD3⁺CD16⁺CD56⁺CD107a** было 0,26% (СО 0,20%), инфицированных вирусом 3 генотипа 0,27% (СО 0,23%) (см. табл. 1). Абсолютное содержание активированных **НК-клеток — 0,67 (СО 0,8) кл/мкл у пациентов**, инфицированных 1 генотипом вируса, и 0,58 (СО 0,5) кл/мкл у пациентов, инфицированных 3 генотипом вируса (см. табл. 2).

При высоком уровне вирусной нагрузки относительное содержание активированных **НК-клеток — 0,27% (СО 0,25%)**, при низком уровне — 0,22% (СО 0,14%) (см. табл. 1). При оценке абсолютного количества активированных **НК-клеток 0,54 (СО 0,79) кл/мкл** определялось в группе пациентов с высоким уровнем вирусной нагрузки и 0,701 (СО 0,54) кл/мкл в группе пациентов с низким уровнем вирусной нагрузки (см. табл. 2).

Таким образом, при сравнении пациентов, различающихся по молекулярно-биологическим характеристикам вирусного процесса, и здоровых доноров статистически достоверные различия были выявлены только в отношении содержания активированных **НК-клеток с фенотипом CD3⁺CD16⁺CD56⁺CD107a** ($p < 0,001$), что подчеркивает необходимость определения не только количественного состава клеток, но и их функциональной активности.

Заключение

Полученные нами результаты свидетельствуют о снижении уровня активированных **НК-клеток**, характеризующихся низкой экспрессией LAMP-белка (CD107a) у всех пациентов с ХГС. Данный

факт указывает на то, что, возможно, в основе одного из механизмов хронизации ВГС лежит недостаточность клеточных факторов противовирусного иммунитета. Установить взаимосвязь уровня цитотоксических лимфоцитов с молекулярно-биологическими характеристиками вирусного процесса нам не удалось.

Существуют данные, свидетельствующие о том, что снижение цитотоксической активности является важным фактором персистенции ВГС в организме [11]. Напротив, повышение функциональной активности **НК-клеток приводит к массивному цитолизу гепатоцитов** с последующим ранним развитием фибротических изменений [2].

Именно **НК-клетки** определяют активность цитотоксических реакций, направленных на элиминацию клеток, инфицированных вирусами на ранних стадиях заболевания, когда превалирует роль факторов неспецифической резистентности. В дальнейшем на этапе развития адаптивного иммунного ответа, возникающего при ХГС достаточно поздно в силу слабой иммуногенности возбудителя, свою цитотоксическую функцию реализуют, вероятно, **НКТ-клетки**, несущие Т-клеточный рецептор. Существует мнение, что основная функция **НКТ-клеток — это продукция цитокинов**, в частности IFN- γ и IL-4, посредством которого происходит регуляция баланса Th1/Th2 [9]. Кроме того, при ХГС эти клетки продуцируют IL-13, действие которого связывают с развитием фибротических изменений в ткани печени [8]. Именно их активность определяет волнообразное течение ХГС и, возможно, баланс между процессами цитолиза, репарации и прогрессированием соединительнотканной трансформации печеночной ткани.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об отсутствии существенных изменений в содержании **НК- и НКТ-клеток у больных** с различными вариантами ХГС. Было выявлено лишь снижение относительного содержания **НКТ-клеток в сравнении с донорами**. В то же время определялось существенное снижение активированных форм **НК-клеток у пациентов с ХГС**, что может свидетельствовать о нарушениях в процессах элиминации поражённых вирусом клеток. Следует отметить, что именно цитотоксические лимфоциты (наряду с системой интерферонов и макрофагов) определяют основной противовирусный потенциал иммунной системы, как на стадии врожденного иммунитета (в ранние фазы инфекционного процесса), так и при развитии адаптивных иммунных реакций при прогрессировании заболевания.

Литература

1. Селькова, М.С. Особенности содержания **НК-клеток у больных хроническим гепатитом С** / М.С. Селькова

[и др.] // Медицинская иммунология. — 2012. — Т. 14, № 4–5. — С. 439–444.

2. Ahlenstiel, G. Natural Killer Cells are Polarized towards Cytotoxicity in Chronic Hepatitis C in an Interferon- α -Dependent Manner / G. Ahlenstiel [et al.] // Gastroenterology. — 2010. — V. 138 (1). — P. 325–335.

3. Alter, G. CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity / G. Alter, J.M. Malenfant, M. Altfeld // J. Immunol. Methods. — 2004. — V. 294 (1–2). — P. 15–22.

4. Amadei, B. Activation of natural killer cells during acute infection with hepatitis C virus / B. Amadei [et al.] // Gastroenterology. — 2010. — V. 138 (4). — P. 1536–1545.

5. Bonorino, P. Fine characterization of intrahepatic NK cells expressing natural killer receptors in chronic hepatitis B and C / P. Bonorino [et al.] // J. Hepatol. — 2009. — V. 51, № 3. — P. 458–467.

6. Dessouki, O. Chronic hepatitis C viral infection reduces NK cell frequency and suppresses cytokine secretion: Reversion by anti-viral treatment / O. Dessouki [et al.] // Biochemical and

Biophysical Research Communications — 2010. — V. 393, Issue 2, №5. — P. 331–337

7. Gao, B. Liver natural killer and natural killer T cells: immunobiology and emerging roles in liver diseases / B. Gao, S. Radaeva, O. Park // *Journal of Leukocyte Biology*. — 2009. — № 86. — P. 513–528.

8. Kenna, T. NKT cells from normal and tumor-bearing human livers are phenotypically and functionally distinct from murine NKT cells / T. Kenna [et al.] // J. Immunol. — 2003. — V. 171, № 4. — P. 1775–1779.

9. Liu, T.Y. Distinct subsets of human invariant NKT cells differentially regulate T helper responses via dendritic cells / T.Y. Liu [et al.] // Eur. J. Immunol. — 2008. — V. 38, № 4. — P. 1012–1023.

10. Mercer, J.C. Natural killer T cells: rapid responders controlling immunity and disease / J.C. Mercer, M.J. Ragin, A. August // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. — 2005. — V. 37. — P. 1337–1343.

11. Pavio, N. The hepatitis C virus persistence: how to evade the immune system? / N. Pavio, M.M.C. Lai // J. Biosci. — 2003. — V. 28, № 3. — P. 287–304.

Автор:

Селькова Мария Сергеевна — заочный аспирант Научно-исследовательского института гриппа, тел.: 8-921-323-69-24, e-mail: selkovams@mail.ru

КОЛОНИЗАЦИОННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИЕРСИНИОЗЕ

И.Ю. Чичерин¹, И.П. Погорельский², И.А. Лундовских², Е.А. Бессолицына², И.В. Дармов², М.Р. Шабалина²

¹ Научное общество «Микробиота», Сергиев Посад

² Вятский государственный университет, Киров

Colonization resistance of the intestinal mucosa in experimental yersiniosis

I.Yu. Chicherin¹, I.P. Pogorelsky², I.A. Lundovskikh², E.A. Bessolitsyna², I.V. Darmov², M.R. Shabalina²

¹ Scientific society «Microbiota», Sergiev Posad

² Vyatka State University, Kirov

Резюме. Исследовано влияние пребиотика Стимбифид и низкомолекулярных экзометаболитов нагосагочной жидкости нативных культур пробиотических бифидобактерий и лактобактерий, обладающих пребиотическим действием, на предотвращение развития кишечного иерсиниоза у конвенциональных белых мышей.

Подопытных животных инфицировали перорально культурой возбудителя кишечного иерсиниоза *Yersinia enterocolitica*, выделенного от больного с манифестной формой инфекционного заболевания. Пребиотик Стимбифид, нагосагочная жидкость нативных культур бифидобактерий и лактобактерий, составляющих основу пробиотиков Бифидумбактерин и Лактобактерин, при пероральном введении инфицированным животным полностью купировали развитие кишечного иерсиниоза и предотвращали дисбиотические изменения в составе кишечной микрофлоры.

Ключевые слова: кишечный иерсиниоз, белые мыши, дисбактериоз, пребиотик, пробиотик, экзометаболиты.

Abstract. The effect of prebiotic Stimbifid and low-molecular exometabolites in the supernatant fluid of native cultures of prebiotic bifidobacteria and lactobacilli possessing prebiotic effect on the prevention of intestinal yersiniosis in the conventional white mice was investigated.

Experimental animals were infected orally with intestinal yersiniosis pathogen *Yersinia enterocolitica*, isolated from patient with manifested form of infection. Prebiotic Stimbifid, supernatant fluids of native cultures of Bifidobacteria and Lactobacteria, which form the basis of probiotics Bifidumbacterin and Lactobacterin, when administered orally to infected animals completely stopped the development of intestinal yersiniosis and prevented the dysbiotic changes in the intestinal microflora.

Key words: intestinal yersiniosis, white mice, dysbacteriosis, prebiotic, probiotic, exometabolites.

Введение

Кишечный иерсиниоз — острая зоонозная бактериальная инфекция, вызываемая микроорганизмами *Yersinia enterocolitica* [1, 2]. Для болезни характерны фекально-оральный механизм передачи возбудителя, полиморфизм клинической симптоматики, нередко стертая картина начальных проявлений болезни, сходство клинических проявлений с другими заболеваниями кишечника различной этиологии, вовлечение в патоморфологический процесс ряда органов и систем, преимущественная спорадичность возникновения заболевания, возможность хронизации [1–4].

Эти и другие особенности кишечного иерсиниоза обуславливают известные трудности выявления, диагностики и лечения данного инфекционного заболевания, летальность при септической форме которого достигает 30–60% [5, 6].

Основным резервуаром возбудителя в природе являются мелкие грызуны, которые оставляют возбудитель на различных объектах внешней среды, на почве, пищевых продуктах, заносят в воду, способствуя распространению иерсиний среди диких и домашних животных, мелких певчих птиц.

Источником инфекции для человека являются в основном домашние животные и мелкие грызуны [1, 2, 6]. Факторами передачи *Y. enterocolitica* являются контаминированные мясные продукты, молоко, овощи, вода. Иерсинии способны длительно существовать при низких положительных температурах и размножаться в пищевых продуктах. Для кишечного иерсиниоза характерен сезонный подъем заболеваемости; в ноябре отмечается пик заражения возбудителем *Y. enterocolitica* [6].

Серьезность проблемы кишечного иерсиниоза, с которой сталкиваются врачи-инфекционисты,

эпидемиологи и микробиологи, связана с тем, что заболевание часто остается нераспознанным и превращается, будучи изначально инфекционным, в терапевтическую и даже хирургическую проблему [4–6].

Важно при этом отметить, что при кишечном иерсиниозе, так же, как и при псевдотуберкулезе [7], возникают выраженные дисбиотические изменения в составе кишечной микрофлоры. Очень часто с микробиологическими нарушениями в консорциуме нормальной кишечной микрофлоры ассоциируются возникающие и усугубляющиеся метаболические нарушения, которые провоцируют прогрессирование патологического состояния с быстрым летальным исходом [8].

Как известно, для *Y. enterocolitica* основным является энтеральный путь инфицирования [2, 6]. Поэтому адекватной моделью, воспроизводящей кишечный иерсиниоз, является энтеральное заражение восприимчивых животных [9, 10].

Комплекс факторов патогенности *Y. enterocolitica* определяет их способность вызывать заболевание у лабораторных животных и у людей. Процесс первичного взаимодействия патогенных иерсиний с эпителием кишечника при энтеральном поступлении в организм подразделяют на два этапа: адгезию с энтеротоксигенностью различной степени выраженности при слабой или отсутствующей инвазии и пенетрацию бактерий в клетки эпителия при слабой токсинпродукции с последующей генерализацией инфекции [2, 11].

Штаммы *Y. enterocolitica* серотипа 0:9 (наиболее инвазивные, содержащие плазмиду вирулентности) характеризуются развитием генерализованного процесса с возникновением энтероколита, увеличением лимфатических узлов, печени, селезенки, полнокровием паренхиматозных органов и образованием милиарных абсцессов. Выделение патогенных бактерий отмечается из печени, лимфатических узлов брыжейки, из кишечного содержимого [2].

Установление полидетерминантной природы патогенности возбудителя кишечного иерсиниоза, факторы патогенности которого контролируются как хромосомными, так и плазмидными генами [12], имеет принципиальное значение для понимания начального этапа взаимодействия возбудителя со слизистой оболочкой кишечника.

Установлено, в частности, что бесплазмидные штаммы *Y. enterocolitica* не инициируют инфекционный процесс и иммунную перестройку организма при энтеральном инфицировании. Мутанты по гену *inv*, не синтезирующие инвазин, не способны проникать внутрь эпителиальных клеток кишечника на начальном этапе развития инфекции [13].

Данные, полученные с использованием экспериментальных моделей иерсиниозной инфекции [14], оказались весьма информативными в плане микробиолого-морфологической оценки характера взаимодействия иерсиний с чувствительным организмом [13, 15]. При естественном (энтеральном) пути введения вирулентных штаммов *Y. enterocolitica* в чувствительный организм, как и при энтеральном введении бактерий близкородственного псевдотуберкулезного микроба (*Y. pseudotuberculosis*), важнейшим этапом инфекционного процесса является взаимодействие возбудителя со слизистой оболочкой кишечника.

Высокая колонизационная резистентность слизистой оболочки кишечника и ее сопротивляемость к колонизации патогенными и условно-патогенными микроорганизмами является составной частью защитных механизмов кишечника в норме. Сохранив колонизационную резистентность слизистой оболочки кишечника, обеспечив бионесовместимость по типу «хозяин против патогена» [16], можно купировать развитие патологического процесса на ранней стадии иерсиниозной инфекции, предотвратив адгезию, инвазию и колонизацию слизистой возбудителем *Y. enterocolitica*.

Цель исследования — изучение влияния пребиотика Стимбифид и низкомолекулярных микробных экзометаболитов пробиотических микроорганизмов, образующихся в процессе культивирования в жидких питательных средах, на колонизационную резистентность кишечника конвенциональных белых мышей и предотвращение развития кишечного иерсиниоза.

Материалы и методы

В экспериментах по моделированию кишечного иерсиниоза на конвенциональных белых мышках использовали кальцийнезависимый штамм 1407 *Yersinia enterocolitica* серотипа 0:9, содержащий плазмиду с молекулярной массой 42 МД. Штамм выделен от больного с манифестной формой заболевания, выраженными симптомами гастроэнтероколита и поражения суставов. Титр антител в крови больного против иерсиний 1:12000. Бактерии штамма устойчивы к ампициллину, чувствительны к хлорамфениколу, гентамицину, ципрофлоксацину, цефтриаксону. Величина LD_{50} для белых мышей при пероральном способе введения составляет $\sim 7,4 \cdot 10^7$ живых микробов.

В работе использовали:

— пребиотический препарат Стимбифид (серия 030910 ТУ 9330-002-50168265-05 с изм. № 1, произведен ООО «В-МИН» (ООО «МедСтар», Россия).

Препарат создан на основе фруктоолиго- и фруктополисахаридов, содержит премикс витаминно-минеральный «Immunity» и вспомогательные вещества (натрия бикарбонат, лактоза, кальция стеарат). Лечебная и профилактическая эффективность пребиотика Стимбифид подтверждена клиническими испытаниями [17];

– пробиотик Бифидумбактерин (серия 315/6, произведен ФГУП «НПО «Микроген»», Россия);

– пробиотик Лактобактерин (серия 15/6, произведен ФГУП «НПО «Микроген»», Россия).

Выращивание штамма *Y. enterocolitica* 1407 с учетом его психрофильности [2] проводили при температуре 24°C.

Результаты и обсуждение

На основании данных, представленных J.C. Пере и V.L. Miller в работе [13], инициация кишечного иерсиниоза при энтеральном поступлении *Y. enterocolitica* в чувствительный организм выглядит следующим образом: на первой стадии процесса происходит адгезия и инвазия возбудителя с последующей транслокацией через интестинальный эпителий в терминальном отделе подвздошной кишки и размножением в пейеровых бляшках; на второй стадии – диссеминация возбудителя по органам и системам тканей и развитие генерализованной (системной) инфекции.

Таким образом, воздействуя на начальной стадии инициации кишечного иерсиниоза при пероральном поступлении возбудителя в организм, можно предупредить его адгезию к эпителиоцитам слизистой оболочки кишечника, колонизацию и инвазию. С этой целью использованные в работе конвенциональные белые мыши были разделены на 6 групп по 10 особей в каждой группе. Первая группа, животных которой инфицировали перорально возбудителем кишечного иерсиниоза, являлась контрольной.

Инфицированных перорально возбудителем кишечного иерсиниоза животных второй группы лечили внутримышечным введением гентамицина по 1 мг в сутки в течение 6 дней, начиная со вторых суток после инфицирования.

Животные третьей и четвертой групп являлись опытными. Животным третьей группы вводили перорально пребиотик Стимбифид в дозе 13 мг в сутки за 3 дня до инфицирования культурой *Y. enterocolitica* и еще в течение 6 дней после инфицирования. Животным четвертой группы пребиотик Стимбифид начинали вводить *per os* в той же дозе через 24 ч после инфицирования в течение 7 дней.

Пятая и шестая группы животных также являлись опытными. Животным пятой группы вводили

по 0,2 мл перорально надосадочную жидкость нативной культуры бифидобактерий за 3 дня до заражения возбудителем *Y. enterocolitica*, а также в течение 6 дней после заражения. Животным шестой группы за 3 дня до заражения, как и животным пятой группы, вводили по 0,2 мл перорально надосадочную жидкость нативной культуры лактобактерий, а также в течение 6 дней после заражения.

Нативные культуры пробиотических бифидобактерий и лактобактерий, в которых накапливались низкомолекулярные микробные экзометаболиты, получали путем культивирования выделенных из коммерческих препаратов Бифидумбактерин и Лактобактерин микроорганизмов в жидких питательных средах при температуре 37°C в течение 72 ч до концентрации бифидобактерий $8,8 \cdot 10^8$ КОЕ·мл⁻¹ и лактобактерий $3,0 \cdot 10^9$ КОЕ·мл⁻¹.

Заражающая доза возбудителя кишечного иерсиниоза для животных всех 6 групп составила 10 LD₅₀ ($\sim 7,4 \cdot 10^8$ КОЕ) при пероральном введении бактериальной взвеси, что гарантировало развитие манифестной формы заболевания. Результаты экспериментов представлены в таблице.

Как следует из представленных в таблице данных, животные контрольной группы, инфицированные энтерально возбудителем кишечного иерсиниоза, погибли в сроки от 8 до 15 суток со дня инфицирования. О развитии системной инфекции свидетельствует выделение чистой культуры иерсиний от павших животных.

При бактериологическом изучении фекалий погибших животных на селективной плотной питательной среде выявлен рост колоний иерсиний, соответствующий их количеству в 1 г фекалий, равному $6,8 \cdot 10^5$ КОЕ·г⁻¹. Одновременно отмечалось снижение общего количества нормальной кишечной микрофлоры в $3,5 \cdot 10^5$ раз, бифидобактерий – в $4,7 \cdot 10^4$ раз, лактобактерий – в $2,1 \cdot 10^6$ раз, эшерихий – в $1,6 \cdot 10^3$ раз.

Данные бактериологического исследования фекалий белых мышей контрольной группы свидетельствуют о развитии дисбиотических изменений в микробном сообществе с уменьшением бифидобактерий, лактобактерий и эшерихий и довольно значительном содержании бактерий кишечного иерсиниоза.

Лечение инфицированных животных второй группы гентамицином, начатое через 24 ч после перорального введения животным суспензии бактерий *Y. enterocolitica* 1407, полностью купировало развитие инфекционного процесса. При этом в фекалиях выживших животных было выявлено существенное снижение как общего содержания нормальной кишечной микрофлоры (в $3,4 \cdot 10^3$ раз), так и бифидобактерий

Таблица

Протективная эффективность пребиотика Стимбифид и низкомолекулярных экзометаболитов бифидобактерий и лактобактерий при пероральном заражении конвенциональных белых мышей возбудителем кишечного иерсиниоза ($X \pm t$, $n=10$)

№ п/п	Группа животных	Заражающая доза, КОЕ	Количество животных, особей ...		Сроки гибели, сутки, $\bar{X}$ ($X_{\min} - X_{\max}$)	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки эксперимента, КОЕ·г ⁻¹		
			взятых в опыт	павших от кишечного иерсиниоза		выделенные микроорганизмы	начало эксперимента	25 (или в день гибели)
1	Контрольная	10 LD ₅₀ (7,4·10 ⁸)	10	10	11,0 (8 – 15)	Общее количество Бифидобактерии Лактобактерии Эшерихии	(6,4±0,5)·10 ⁹ (6,6±0,6)·10 ⁶ (2,5±0,7)·10 ⁸ (1,8±0,5)·10 ⁴	(1,8±0,5)·10 ⁴ (1,4±0,6)·10 ² (1,2±0,5)·10 ² (1,1±0,5)·10 ¹
2	Лечение гентамицином через 24 часа после заражения в течение 5 дней		10	0	—	Общее количество Бифидобактерии Лактобактерии Эшерихии	(6,8±0,6)·10 ⁹ (6,5±0,8)·10 ⁶ (2,0±0,6)·10 ⁸ (1,7±0,7)·10 ⁴	(2,0±0,6)·10 ⁶ (6,5±0,5)·10 ⁴ (7,0±0,5)·10 ⁴ (1,2±0,6)·10 ³
3	Введение рег ос пребиотика Стимбифид за 3 дня до заражения и в течение 6 дней после заражения		10	0	—	Общее количество Бифидобактерии Лактобактерии Эшерихии	(6,2±0,6)·10 ⁹ (6,2±0,5)·10 ⁶ (2,0±0,5)·10 ⁸ (1,8±0,6)·10 ⁴	(8,0±0,5)·10 ⁹ (5,2±0,6)·10 ⁷ (4,2±0,5)·10 ⁸ (3,9±0,6)·10 ⁴
4	Введение рег ос пребиотика Стимбифид через 24 ч после заражения в течение 7 дней		10	0	—	Общее количество Бифидобактерии Лактобактерии Эшерихии	(5,9±0,6)·10 ⁹ (6,2±0,5)·10 ⁶ (2,5±0,5)·10 ⁸ (1,7±0,5)·10 ⁴	(4,1±0,6)·10 ⁹ (5,8±0,6)·10 ⁷ (4,4±0,6)·10 ⁸ (3,0±0,8)·10 ⁴
5	Введение рег ос надосадочной жидкости нативной культуры бифидобактерий за 3 дня до заражения и в течение 6 дней после заражения		10	0	—	Общее количество Бифидобактерии Лактобактерии Эшерихии	(6,0±0,6)·10 ⁹ (6,3±0,5)·10 ⁶ (3,0±0,5)·10 ⁸ (1,5±0,7)·10 ⁴	(2,6±0,5)·10 ⁹ (5,8±0,6)·10 ⁶ (2,3±0,5)·10 ⁸ (1,6±0,5)·10 ⁴
6	Введение рег ос надосадочной жидкости нативной культуры лактобактерий за 3 дня до заражения и в течение 6 дней после заражения	10 LD ₅₀ (7,4·10 ⁸)	10	0	—	Общее количество Бифидобактерии Лактобактерии Эшерихии	(6,0±0,5)·10 ⁹ (6,4±0,7)·10 ⁶ (2,3±0,6)·10 ⁸ (2,0±0,6)·10 ⁴	(8,2±0,5)·10 ⁹ (6,8±0,6)·10 ⁷ (5,8±0,6)·10 ⁸ (1,7±0,5)·10 ⁴

Приведены результаты определения содержания бактерий, выделенных из кишечного содержимого погибших животных в группе 1 (контроль); в группах 2 – 6 (опыт) на 25-е сутки эксперимента.

(в 100 раз), лактобактерий (в $2,9 \cdot 10^3$ раз) и эшерихий (в 14,2 раза).

Вводимый перорально инфицированным животным пребиотик Стимбифид в соответствующих дозах полностью предотвратил колонизацию и размножение бактерий кишечного иерсиниоза и генерализацию инфекционного процесса. Бактериологическое исследование фекалий этой группы животных свидетельствует о том, что в них не было выявлено дисбиотических изменений в составе кишечной микрофлоры, а количество бифидобактерий даже возросло.

Важно подчеркнуть, что протективный эффект пребиотика Стимбифид в отношении патогенных иерсиний *Y. enterocolitica* 1407 проявляется как на фоне его профилактического введения (т.е. за 3 дня до заражения животных третьей группы), так и через 24 ч после заражения животных (четвертая группа).

Животным пятой и шестой опытных групп вводили за 3 дня до заражения возбудителем *Y. enterocolitica* 1407 **надосадочную жидкость** нативных культур бифидобактерий (штамм *B. bifidum* 1) и лактобактерий (штамм *L. plantarum* 8P-A3) соответственно, а также еще в течение 6 дней после заражения. В обеих группах не было зафиксировано гибели ни одного подопытного животного. При этом бактериологическое изучение фекалий подопытных животных на 25-е сутки эксперимента не выявило дисбиотических изменений в сообществе микроорганизмов кишечной микрофлоры, а в содержимом кишечника животных шестой группы содержание бифидобактерий даже возросло.

Представленные в таблице результаты свидетельствуют о действительном влиянии пребиотика Стимбифид и низкомолекулярных микробных экзометаболитов, содержащихся в надосадочной жидкости нативных культур *B. bifidum* 1 и *L. plantarum* 8P-A3, на начальный этап инфекционного процесса и предотвращение его генерализации.

Несмотря на то, что возбудитель кишечного иерсиниоза *Y. enterocolitica* менее патогенный, чем близкородственные возбудители чумы *Y. pestis* и псевдотуберкулеза *Y. pseudotuberculosis*, однако вызываемое им заболевание представляет довольно серьезную проблему для врачей в плане как диагностики, так и лечения [5, 6].

Особенностью возбудителя *Y. enterocolitica*, как это отмечено в работе [13], является не его вирулентность, а наличие детерминируемого соответствующим геном биосинтеза инвазина, определяющего проникновение бактерий внутрь эпителиальных клеток в период начальной стадии инфекции. В последующих стадиях кишечного иерсиниоза роль инвазина второстепенная, поскольку как исходный штамм, так и его *inv*⁻-му-

тант вызывают системную летальную инфекцию у мышей [2, 13].

Как следует из результатов исследований А.В. Цинзерлинга, внедрение и размножение *Y. enterocolitica* происходит в собственной мембране слизистой оболочки тонкой кишки, преимущественно в области илеоцекального угла и червеобразного отростка [18]. Начиная со 2-х суток, иерсинии размножаются на поверхности эпителия (колонизация), что проявляется цитотоксическим повреждением апикальной цитоплазмы и инвазии в некоторые эпителиоциты [19]. Через 3 суток колонизация иерсиний приводит к образованию биопленок, в том числе и сплошных на покровном эпителии и в криптах илеоцекального угла и подвздошной кишки.

В дальнейшем происходит инвазия бактерий в эпителиоциты, размножение и транслокация за пределы кишечника с генерализацией заболевания. Именно в таком направлении прошла генерализация кишечного иерсиниоза у подопытных животных первой контрольной группы, которых заразили культурой иерсиний штамма *Y. enterocolitica* 1407. Все 10 инфицированных животных погибли от кишечного иерсиниоза в сроки от 8 до 15 суток. Специфика поражения была подтверждена выделением культуры иерсиний из внутренних органов и кишечного содержимого, где выявлено существенное снижение как общего количества кишечной микрофлоры, так и отдельных ее представителей (бифидобактерий, лактобактерий и эшерихий).

Гентамицин, введенный внутримышечно в соответствующей дозе инфицированным белым мышам, предотвратил развитие инфекционного процесса. У излеченных животных в фекалиях не были обнаружены бактерии кишечного иерсиниоза, но в то же время выявлены дисбиотические изменения в микробном сообществе кишечника.

Введение инфицированным животным третьей и четвертой групп перорально пребиотика Стимбифид в соответствующей дозировке предотвратило, согласно патоморфологическим исследованиям, описанным в работах [18, 19], адгезию и колонизацию иерсиний с последующим формированием обширных участков биопленки на покровном эпителии и в криптах кишечника, и тем самым был ликвидирован первичный патоморфологический субстрат кишечного иерсиниоза у белых мышей.

Аналогичным эффекту от введения инфицированным животным пребиотика Стимбифид оказался эффект от перорального введения подопытным инфицированным мышам надосадочной жидкости нативных культур бифидобактерий *B. bifidum* 1 и лактобактерий *L. plantarum* 8P-A3

(соответственно 5 и 6 группы животных). Выявленный протективный эффект можно напрямую связать с микробными экзометаболитами *B. bifidum* 1 и *L. plantarum* 8P-A3, положительно влияющими на колонизационную резистентность слизистой оболочки кишечника подопытных животных и ингибирующими адгезию патогенных иерсиний, а в последующем — их ускоренную элиминацию из кишечника.

Как известно, основным механизмом колонизационной резистентности является активация иммунной системы [20]. В то же время состояние колонизационной резистентности напрямую зависит от биологических свойств микроорганизмов всего сообщества кишечной микрофлоры, а также условно-патогенных (патогенных) и пробиотических микроорганизмов, назначаемых с профилактической или лечебной целью.

Взаимоотношения между указанными группами микроорганизмов могут носить антагонистический, синергидный или индифферентный характер, что проявляется в виде конкурентности либо совместимости.

Очевидно, что перорально введенные пребиотики Стимбифид, а также надосадочные жидкости нативных культур бифидобактерий *B. bifidum* 1 и лактобактерий *L. plantarum* 8P-A3, содержащие микробные экзометаболиты, обеспечивают оптимальный качественный и количественный состав нормальной кишечной микрофлоры и вследствие этого микроразкологическое преимущество перед попадающими в организм с пищей и водой патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. Являясь экологически и функционально маргинальными, они с неизбежностью, в соответствии с общесистемным законом Г.Ф. Хильми [21, 22], потеряют свою индивидуальность и структуру, будут подвергнуты рестрикции и исчезнут из биотопа.

Полученные нами результаты в определенной мере согласуются с результатами В.М. Добрынина и соавт. [23], изучавшими перспективы использования пробиотических препаратов в качестве средств патогенетической профилактики и терапии сибирской язвы. Авторами доказана перспективность использования доксициклина в комбинации с бактистатином при заражении беспородных белых мышей возбудителем сибирской язвы в дозе 10 LD₅₀, при которой выживаемость инфицированных животных составила 100 %.

В качестве одного из вероятных механизмов положительного воздействия комбинации антибиотика и пробиотика на доброкачественное течение сибиреязвенной инфекции авторы указывают на возможное стимулирующее влияние бактистатина на систему неспецифической иммунологической резистентности.

К такому заключению они пришли, исходя из результатов исследований, в которых выявлена способность бактистатина повышать функциональную активность клеток фагоцитарной системы крови и активировать процессы, ответственные за синтез и секрецию в кровь лизоцима и миелопероксидазы — ферментов, обладающих как иммунорегулирующим действием, так и бактерицидной активностью [23].

Еще одно обстоятельство, на которое обратили внимание В.М. Добрынин и соавт. [23], касается состояния аутомикрофлоры при опасных инфекционных заболеваниях. Несмотря на недостаток информации, авторы убеждены, что с учетом патогенного действия возбудителей опасных инфекционных заболеваний на макроорганизм должны быть изменения со стороны нормофлоры, проявляющиеся развитием дисбиозов, которые способствуют прогрессированию основного заболевания.

Настоящими исследованиями впервые показано, что при генерализации иерсиниозной инфекции, сопровождающейся увеличением возбудителя в чувствительном организме до летальной популяции, отмечается действительное снижение в кишечном содержимом подопытных животных как общего количества микроорганизмов, а также таких значимых представителей, как бифидобактерии, лактобактерии и эшерихии.

Выживаемость инфицированных животных при пероральном введении пребиотика Стимбифид и микробных экзометаболитов в составе надосадочных жидкостей нативных культур бифидобактерий и лактобактерий является интегральным показателем эффективности пробиотического действия на кишечную микрофлору, при котором происходит ингибирование роста, размножения и колонизации патогенных микроорганизмов, оптимизация микроразкологических условий для функционирования кишечного нормобиоценоза и, по-видимому, иммуномодуляция.

Весьма показательно, что при септической форме кишечного иерсиниоза, вторичных очагах инфекции, а также кишечной форме заболевания, протекающего на фоне ослабленного иммунитета, в состав средств лечения включают при необходимости пробиотики [6]. Как показывает опыт инфекционистов, такая необходимость возникает, когда кишечный иерсиниоз развивается на фоне хронических заболеваний печени, злокачественных новообразований, сахарного диабета, иммуносупрессивной терапии, алкоголизма, истощения, гемолитической анемии, а также у пожилых людей.

Именно в этих случаях целесообразно использовать зарекомендовавший себя с положительной стороны пребиотик Стимбифид [17] и, как показано в наших исследованиях, микробные экзомета-

болиты, которые могут стать основой нового класса лечебных препаратов [24].

Выводы

1. В экспериментах на конвенциональных белых мышах изучено влияние пребиотика Стимбифид и низкомолекулярных микробных экзосом, образующихся в процессе культивирования в жидких питательных средах бифидобактерий *B. bifidum* 1 и лактобактерий *L. plantarum* 8P-A3, на колонизационную резистентность кишечника и предотвращение развития кишечного иерсиниоза при пероральном введении животным бактерий штамма *Y. enterocolitica* 1407.

2. Получены нативные культуры пробиотических бактерий *B. bifidum* и *L. plantarum* 8P-A3 с концентрацией $8,8 \cdot 10^8$ КОЕ·мл⁻¹ и $3,0 \cdot 10^9$ КОЕ·мл⁻¹ соответственно. Надосадочная жидкость нативных культур, освобожденная центрифугированием от микробных клеток *B. bifidum* 1 и *L. plantarum* 8P-A3, и пребиотик Стимбифид, введенные перорально инфицированным возбудителем кишечного иерсиниоза конвенциональным белым мышам, характеризуются хорошей переносимостью и отсутствием побочных эффектов.

3. Установлена протективная эффективность пребиотика Стимбифид и надосадочной жидкости нативных культур пробиотических бактерий *B. bifidum* 1 и *L. plantarum* 8P-A3 при пероральном введении конвенциональным белым мышам, зараженным при естественном пути поступления в организм возбудителем кишечного иерсиниоза *Y. enterocolitica* 1407 в дозе 10 LD₅₀.

4. При бактериологическом изучении фекалий выживших в опыте перорального инфицирования возбудителем кишечного иерсиниоза конвенциональных белых мышей не выявлено дисбиотических нарушений кишечной микрофлоры на фоне перорального введения пребиотика Стимбифид и надосадочной жидкости нативных культур пробиотических бактерий *B. bifidum* 1 и *L. plantarum* 8P-A3, в отличие от выраженности дисбиотических нарушений кишечной микрофлоры у погибших в результате развития экспериментального кишечного иерсиниоза подопытных животных.

Литература

1. Ющук, Н.Д. Иерсиниозы / Н.Д. Ющук, Ю.Я. Венгров // Лекции по инфекционным болезням. В 2 томах. — Т. 1. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: ВУНМЦ, 1999. — 454 с.
2. Ющук, Н.Д. Иерсиниозы / Н.Д. Ющук [и др.]. — М.: Медицина, 2003. — 208 с.
3. Ющук, Н.Д. Иерсиниоз как хирургическая проблема / Н.Д. Ющук, Г.Н. Кареткина // Хирургия. — 1999. — № 12. — С. 50–52.
4. Седельникова, С.М. Иерсиниозы как терапевтическая проблема / С.М. Седельникова, Т.В. Ющенко, Э.И. Асеева // Терапевт. Архив. — 2000. — № 11. — С. 27–30.
5. Ющук, Н.Д. Клиника, диагностика и лечение иерсиниоза / Н.Д. Ющук, Г.Н. Кареткина. — М.: Медицина, 1987. — 24 с.
6. Звягинцева, Т.Д. Кишечный иерсиниоз: особенности течения, диагностика, принципы лечения / Т.Д. Звягинцева, Л.А. Мирзоева // Здоровье Украины. — 2008. — № 6/1. — С. 72–73.
7. Сомов, Г.П. Псевдотуберкулез / Г.П. Сомов [и др.]. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 2001. — 256 с.
8. Захаренко, С.М. Инфекции, микробиота кишечника человека и метаболический синдром. Эффективная фармакотерапия / С.М. Захаренко, Ю.А. Фоминых, С.Н. Мехтиев // Гастроэнтерология. — 2012. — № 3. — С. 14–20.
9. Carter, P.D. Pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* for mice / P.D. Carter // Infect. and Immun. — 1975. — № 11 (5). — P. 164–170.
10. Дайтер, А.Б. Патогенные свойства иерсиний и их роль в патологии иерсиниозов / А.Б. Дайтер, Ю.Е. Полоцкий, Г.Я. Ценева // Журн. микробиол. — 1987. — № 5. — С. 108–115.
11. Ценева, Г.Я. Инвазивность и цитотоксичность как критерии оценки аттенуации иерсиний / Г.Я. Ценева, В.М. Бондаренко, Ю.А. Полоцкий // Журн. микробиол. — 1988. — № 9. — С. 10–16.
12. Darwin, A. Identification of *Yersinia enterocolitica* genes affecting survival in an animal host using signature taget transposon mutagenesis / A. Darwin, V.Z. Miller // Mol. Microbiol. — 1999. — № 32. — С. 51–62.
13. Pepe, J.C. *Yersinia enterocolitica* invasion: a primary role in the initiation of infection / J.C. Pepe, V.Z. Miller // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1993. — № 90. — P. 6473–6477.
14. Ценева, Г.Я. Выбор моделей для определения патогенных свойств возбудителя псевдотуберкулеза / Г.Я. Ценева [и др.] // Журн. микробиол. — 1982. — № 11. — С. 68–71.
15. Ценева, Г.Я. Характеристика инвазивности возбудителя псевдотуберкулеза / Г.Я. Ценева [и др.] // Журн. микробиол. — 1984. — № 5. — С. 26–30.
16. Глушанова, Н.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования in vitro / Н.А. Глушанова, Б.А. Шендеров // Журн. микробиол. — 2005. — № 2. — С. 56–61.
17. Грачева, Н.М. Сравнительная оценка клинико-лабораторной эффективности современных про- и пребиотических препаратов в коррекции дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта: отчет о клинико-лабораторном исследовании / Н.М. Грачева [и др.]. — М.: Московский НИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, 2010. — 23 с.
18. Цинзерлинг А.В. Современные инфекции: патологическая анатомия и вопросы патогенеза / А.В. Цинзерлинг, В.А. Цинзерлинг. — СПб., 2002. — 376 с.
19. Авцын, А.П. Основные черты патогенеза псевдотуберкулеза (иерсиниоза) / А.П. Авцын [и др.] // Арх. патол. — 1990. — № 5. — С. 3–7.
20. Шендеров, Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание: в 3 т. / Б.А. Шендеров. — Т. 1: Микрофлора человека и животных и ее функции. — М.: ГРАНТЪ, 1998. — 288 с.
21. Погорельский, И.П. Экологическая и функциональная маргинальность пробиотических микроорганизмов. Общество, наука, инновации (НТК-2012) / И.П. Погорельский, И.Ю. Чичерин, И.А. Лундовских // Ежегод. открыт. всерос. науч.-техн. конф. 16–27 апреля 2012 г. : сб. материалов Вят. гос. ун-т / отв. ред. С.Г. Литвинцев. — Киров, 2012. — 1 электрон. опт. диск (CD-ROM) (Биологический факультет. Секция «Микробиология»).

22. Хильми, Г.Ф. Основы биофизики биосферы / Г.Ф. Хильми. — Л.: Гидрометеиздат, 1966. — 272 с.

23. Добрынин, В.П. Перспективы использования пробиотических препаратов в качестве средств патогенетической профилактики и терапии опасных инфекционных заболеваний. Диагностика, лечение и профилактика опасных и особо опасных инфекционных заболеваний. Биотех-

нология / В.П. Добрынин, А.В. Степанов, М.М. Захарченко // Матер. Всерос. науч. конф., посвящ. 80-летию со дня основания ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России». — Киров, 2008. — С. 69—71.

24. Лахтин, В.М. Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии / В.М. Лахтин [и др.] // Вестник РАМН. — 2008. — № 4. — С. 50—55.

Авторский коллектив:

Чичерин Игорь Юрьевич — президент научного общества «Микробиота», к.м.н.; тел. 8(496)547-53-00, e-mail: rpatron@mail.ru

Погорельский Иван Петрович — профессор кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, д.м.н., профессор, тел. 8(8332)32-16-50, e-mail: ipogorelsky@inbox.ru

Лундовских Ирина Александровна — доцент кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, к.х.м., доцент; тел.: 8(8332)32-16-50, e-mail: lundovskih@vyatsu.ru

Бессолицына Екатерина Андреевна — доцент кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, к.б.н.; тел.: 8(8332)32-16-50, e-mail: kaf_mb@vyatsu.ru

Дармов Илья Владимирович — заведующий кафедрой микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, д.м.н., профессор; тел.: 8(8332)32-16-50, e-mail: darmov@vyatsu.ru

Шабалина Марина Робертовна — доцент кафедры высшей математики факультета прикладной математики и телекоммуникаций Вятского государственного университета, к.п.н., доцент; тел.: 8(8332)64-21-19, e-mail: kaf_mb@vyatsu.ru

РАННИЙ ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЙ ОТВЕТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРЕПАРАТА ЦЕПЭГИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА-2В В КОМБИНАЦИИ С РИБАВИРИНОМ В ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

О.О. Знойко¹, М.В. Маевская², Е.А. Климова¹, С.Л. Максимов¹, С.Н. Кижло³,
Н.А. Петроченкова⁴, Ф.И. Нагимова⁵, Р.А. Иванов⁶, Ю.Н. Линькова⁶, Т.В. Черновская⁶

¹Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, Москва

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

³Санкт-Петербургский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Санкт-Петербург

⁴Смоленская государственная медицинская академия, Смоленск

⁵Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Казань

⁶ЗАО «БИОКАД», Санкт-Петербург

Early virologic response to cepeginterferon alfa-2b in combination with ribavirin in treatment of patients with chronic hepatitis C

О.О. Znoyko¹, M.V. Maevskaya², E.A. Klimova¹, S.L. Maksimov¹, S.N. Kizhlo³, N.A. Petrochenkova⁴, F.I. Nagimova⁵,
R.A. Ivanov⁶, Yu.N. Linkova⁶, T.V. Chernovskaya⁶

¹Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow

²The First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Moscow

³Saint-Petersburg Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Saint-Petersburg

⁴Smolensk State Medical Academy, Smolensk

⁵Republic Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Kazan

⁶CJSC «BIOCAD», Saint-Petersburg

Резюме. Альгерон (цепэгинтерферон альфа 2b) — инновационный препарат пегилированного интерферона альфа, содержащий линейную молекулу полиэтиленгликоля с молекулярной массой 20 кДа. Фармакокинетический профиль Альгерона позволяет вводить препарат 1 раз в неделю.

В рамках клинического исследования II–III фазы 150 ранее не применявших препаратов интерферона пациентов с хроническим гепатитом С были рандомизированы в 3 группы терапии: Альгерон 1,5 мкг/кг/нед, Альгерон 2,0 мкг/кг/нед и группу сравнения — ПегИнtron 1,5 мкг/кг/нед в комбинации с рибавирином 800–1400 мг/сут.

Сравнительный ИТТ-анализ продемонстрировал отсутствие различий в достижении раннего вирусологического ответа (РВО) между группами. В группах пациентов, получавших Альгерон (независимо от вводимой дозы — 1,5 или 2,0 мкг/кг), РВО наблюдался в 94 % случаев, в группе ПегИнтрона — в 88 % случаев. Полный РВО (HCV РНК ≤15 МЕ/мл) зарегистрирован у 88 % и 84 % пациентов, получавших Альгерон в дозах 1,5 и 2,0 мкг/кг соответственно, в группе сравнения — у 84 % участников. Анализ частоты наличия РВО, в том числе в зависимости от генотипа вируса гепатита С, не выявил статистически значимых отличий между группами.

Нежелательные явления, наблюдавшиеся в процессе лечения Альгероном, были дозозависимыми, однако их частота не превышала таковую при использовании стандартных доз ПегИнтрона. На основании отсутствия различий в эффективности при более благоприят-

Abstract. Algeron (cepeginterferon alfa-2b) is a new pegylated form of interferon alfa containing linear polyethylene glycol (molecular weight 20 kDa). Pharmacokinetic profile of Algeron allows once weekly administration.

In phase II–III study 150 treatment-naïve patients with compensated liver function were randomized into 3 groups: Algeron 1,5 µg/kg/week, Algeron 2,0 µg/kg/week, and a reference group of PegIntron 1.5 µg/kg/week in combination with ribavirin 800–1400 mg/day.

Comparative ITT-analysis of early virologic response (EVR) showed absence of differences between groups in frequency of EVR. In Algeron groups (regardless of a dose — 1,5 or 2,0 µg/kg) EVR was observed in 94 %, in PegIntron group — in 88 % of patients. Complete EVR (HCV RNA ≤15 IU/mL) was recorded in 88 % and 84 % of patients receiving Algeron 1,5 and 2,0 µg/kg, respectively, in the reference group — in 84 % of patients. There were no statistically significant differences between groups where patients received Algeron in different doses and the reference group, with or without genotype stratification.

Adverse events occurring during the treatment with Algeron are dose-dependent; however, their frequency is no more than in patients receiving standard doses of PegIntron. Based on the absence of differences in efficacy and more favorable safety profile of a lower dose of the study drug, the therapeutic dose of Algeron was selected to be 1,5 µg/kg/week.

ятном профиле безопасности низкой дозы исследуемого препарата была выбрана терапевтическая доза Альгерона, равная 1,5 мкг/кг/нед.

Ключевые слова: хронический гепатит С, лечение, ранний вирусологический ответ, пегилированный интерферон альфа, цеппегинтерферон альфа 2b, Альгерон.

Введение

Основным этиологическим агентом гепатитов с парентеральным механизмом передачи является вирус гепатита С (HCV), инфицирование которым представляет собой серьезную проблему для здравоохранения и служит ведущей причиной хронической патологии печени [1–2]. В связи с высоким хронизирующим потенциалом HCV-инфекции, приводящей к возникновению необратимых структурных изменений в печени в виде цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы, все пациенты с хроническим гепатитом С (ХГС) рассматриваются как потенциальные кандидаты для противовирусной терапии [3]. Стандарт терапии ХГС включает в себя комбинацию пегилированного интерферона-альфа и рибавирина, длительность применения которых составляет 24–48 недель в зависимости от генотипа вируса [3]. Высокая стоимость данного комбинированного противовирусного лечения обуславливает недоступность для большинства российских пациентов использования пегилированных интерферонов, что приводит к необходимости применения «коротких» интерферонов, обладающих меньшей эффективностью в эрадикации вируса гепатита С по сравнению с пролонгированными формами [4].

Высокая востребованность в препаратах пегилированного интерферона-альфа в терапии хронических вирусных гепатитов явилась предпосылкой для разработки биотехнологической компанией «БИОКАД» нового лекарственного средства данного класса. Препарат Альгерон имеет оригинальную структуру молекулы и состоит из одного позиционного изомера пегилированного интерферона альфа, к которому присоединен полиэтиленгликоль с молекулярной массой 20 кДа в области N-концевого цистеина. В соответствии с рекомендациями экспертов ВОЗ инновационной молекуле присвоено международное непатентованное наименование цеппегинтерферон альфа-2b.

Альгерон прошел полный спектр исследований, необходимых для разработки оригинального биотехнологического препарата, включая исследования физико-химических и иммунобиологических свойств, фармакокинетики, общей токсичности, местно-раздражающего действия, алергизирующей и мутагенной активности. Клинические исследования Альгерона ранних фаз позволили опреде-

Key words: chronic hepatitis C, treatment, early virologic response, pegylated interferon alfa, cepeginterferon alfa-2b, Algeron.

лить диапазон предполагаемых терапевтических доз препарата, а также изучить его фармакокинетические и фармакодинамические свойства. Это позволило приступить к изучению эффективности и безопасности препарата в условиях II–III фазы клинического исследования с применением стандартной схемы терапии хронического гепатита С.

Цели исследования:

1. Изучение эффективности и безопасности применения препарата Альгерон в дозах 1,5 мкг/кг/нед и 2,0 мкг/кг/нед в комбинации с рибавирином в терапии ХГС.
2. Определение оптимальной терапевтической дозы Альгерона в терапии ХГС в комбинации с рибавирином.
3. Сравнение эффективности и безопасности препарата Альгерон в дозах 1,5 мкг/кг/нед и 2,0 мкг/кг/нед и препарата ПегИнтрон в рамках комбинированной терапии ХГС.

Материалы и методы

В соответствии с поставленными целями дизайн многоцентрового открытого сравнительного клинического исследования предусматривал включение 150 взрослых ранее не леченных препаратами интерферонов пациентов с ХГС и компенсированной функцией печени. Критериями исключения из исследования являлись стандартные противопоказания для проведения комбинированной противовирусной терапии рибавирином и препаратами пегинтерферона, а также коинфицирование вирусом гепатита В, ВИЧ, тяжелые коморбидные состояния, актуальная алкогольная или наркотическая зависимость. С целью равномерного распределения пациентов в группах по основным предикторным признакам успешности терапии ХГС выполнялась стратификация больных по 4 признакам — возрасту, полу, генотипу HCV и вирусной нагрузке. Больных, включенных в исследование, рандомизировали методом случайных чисел внутри каждой страты для обеспечения равнозначности по количеству пациентов с теми или иными вышеперечисленными признаками.

В первую основную группу (n=50) включались пациенты, которые получали Альгерон в дозе 1,5 мкг/кг 1 раз в неделю, подкожно, в комбинации с ежедневным приемом рибавирина (Ребетол) перорально, в суточной дозе 800–1400 мг.

Во вторую основную группу ($n=50$) включались пациенты, которые получали Альгерон в дозе 2,0 мкг/кг 1 раз в неделю, подкожно, в комбинации с ежедневным приемом рибавирина (Ребетол) перорально, в суточной дозе 800 – 1400 мг.

В третью группу (сравнения) ($n=50$) вошли пациенты, которые получали препарат сравнения — ПегИнtron в дозе 1,5 мкг/кг 1 раз в неделю, подкожно, также в комбинации с ежедневным приемом рибавирина (Ребетол) перорально, в суточной дозе 800 – 1400 мг.

После 12 недель лечения проводилась оценка эффективности терапии (частота достижения быстрого (после 4 недель) и раннего (после 12 недель) вирусологических ответов по данным полимеразной цепной реакции (ПЦР) сыворотки крови на HCV РНК (чувствительность 15 МЕ/мл). У больных с отсутствием вирусологического ответа после 12 недель ПВТ отменялась, и эти больные выбывали из исследования; пациенты, достигшие вирусологического ответа, продолжали получать терапию в течение еще 12 или 36 недель в зависимости от генотипа HCV. Общая продолжительность противовирусной терапии стандартная: для пациентов с 1 генотипом HCV — 48 недель, со 2 или 3 генотипом — 24 недели.

Комплекс лабораторно-инструментальных методов исследования включал стандартные биохимические и общеклинические анализы крови, выполняемые еженедельно, а также контроль динамики вирусной нагрузки, функции щитовидной железы. Визиты пациентов в исследовательские центры осуществлялись в течение первого месяца терапии один раз в две недели, далее — один раз в месяц.

Для оценки эффективности лечения использовался модифицированный ИТТ (intent-to-treat) анализ (mITT), который включал данные всех пациентов, которые были отнесены к какой-либо группе лечения (рандомизированы), получили хотя бы 1 дозу исследуемых препаратов и не были исключены в начале исследования вследствие серьезных нарушений правил и критериев включения/невключения протокола. Согласно ИТТ-принципу, досрочное выбывание пациента по любой причине или отсутствие/потеря данных рассматривались как неудача лечения. Кроме того, для оценки частоты вирусологического ответа на 12-й неделе терапии дополнительно использовался per-protocol analysis, который включал данные всех пациентов, прошедших 12-недельный курс лечения. Статистическая обработка полученных данных включала определение типа имеющихся данных и вида их распределения с применением критериев Шапиро — Уилка и Лиллефорса. В случае нормального распределения значений и равенства дисперсий (тест Левена) для оценки достоверности различий

использовали классический **t-критерий Стьюдента**. В случае, если распределение признаков являлось отличным от нормального, использовались непараметрические критерии Манна — Уитни, Колмогорова — Смирнова, Вилкоксона для количественных или порядковых анализируемых признаков. Точный критерий Фишера (ТКФ) применялся для любых двумерных таблиц в том случае, если хотя бы в одной ячейке таблицы ожидаемых частот значение было меньше или равно 5. Критерий хи-квадрат (χ^2) — использовался в случае, если частоты во всех ячейках таблицы ожидаемых частот были больше или равны 5 (с поправкой Йетса). Для оценки бинарных признаков использовалось соотношение шансов (Odds Ratio, OR) и рассчитывались 95% доверительные интервалы (95% ДИ).

Результаты и обсуждение

В настоящее исследование на базе 7 исследовательских центров было включено 150 пациентов, рандомизированных в три группы терапии (1 — Альгерон 1,5 мкг/кг + рибавирин; 2 — Альгерон 2,0 мкг/кг + рибавирин и 3 — ПегИнtron 1,5 мкг/кг + рибавирин) по 50 человек в каждой.

Средний возраст всех пациентов на момент включения в исследование составил 35 [30 – 41] лет. Отмечено преобладание лиц мужского пола, которые составляли около $\frac{2}{3}$ из всей выборки пациентов (табл. 1). Средняя масса тела пациентов на скрининге составила в группе 1 (Альгерон 1,5 мкг/кг) 79,5 [68 – 85] кг, в группе 2 (Альгерон 2,0 мкг/кг) — 85 [67 – 90] кг, в группе 3 (ПегИнtron) — 74,5 [63 – 80] кг ($p>0,05$ (тест Манна — Уитни) при сравнении всех групп между собой). Анализ средних значений массы тела внутри групп в зависимости от генотипа также не выявил статистически значимых различий в сформированных выборках пациентов. Как известно, исходный уровень вирусной нагрузки является одним из наиболее важных прогностических факторов ответа на противовирусную терапию. Поэтому на этапе рандомизации производилась стратификация больных, помимо возраста, пола и генотипа HCV, по уровню виремии, что позволило равномерно распределить в исследуемые группы больных с высокой ($>8 \times 10^5$ МЕ/мл) вирусной нагрузкой (около $\frac{1}{3}$ больных) и низким уровнем виремии ($\leq 8 \times 10^5$ МЕ/мл) — примерно $\frac{2}{3}$ пациентов (см. табл. 1).

В группу терапии Альгероном в дозировке 1,5 мкг/кг рандомизировано 26 (52% от общего количества участников группы) пациентов с 1 генотипом (из них 1b генотип HCV наблюдался у 22 пациентов (44%), 1a — у 4 (8%) и 24 пациента (48%) с 2 или 3 генотипами HCV (у 22 человек (44%) обнаруживался 3 генотип, у 2 (4%) — второй генотип).

Таблица 1

Исходные демографические и вирусологические характеристики пациентов, включенных в исследование

Параметр	Альгерон 1,5 мкг/кг (n = 50), абс/%	Альгерон 2,0 мкг/кг (n = 50), абс/%	ПегИнtron 1,5 мкг/кг (n = 50), абс/%
HCV генотип 1	26 / 52	27 / 54	28 / 56
HCV генотипы 2 и 3	24 / 48	23 / 46	22 / 44
Мужчины	37 / 74	34 / 68	35 / 70
Возраст ≤40 лет	40 / 80	35 / 70	36 / 72
Масса тела ≤ 70 кг	16 / 32	15 / 30	21 / 42
Высокая вирусная нагрузка (>8×10 ⁵ МЕ/мл)	17 / 34	16 / 32	14 / 28

В группе пациентов, получавших Альгерон в дозе 2,0 мкг/кг, количество пациентов с 1 генотипом HCV составило 27 (54%), из них 1b генотип зарегистрирован у 26 больных (52%), 1a генотип — у 1 участника (2%). Число больных с 2 или 3 генотипом HCV в данной группе составило 23 (46%) с преобладанием 3 генотипа (21 (42%) человек); у 2 (4%) пациентов выявлялся 2 генотип вируса гепатита С.

Аналогичная тенденция в распределении подтипов HCV наблюдалась и в 3-й группе пациентов, которым проводилась терапия препаратом сравнения: у 28 (56%) человек обнаружен 1-й генотип вируса (из них 1b — у 26 (52%) пациентов, 1a — у 2 (4%), у 22 (44%) больных выявлялся генотип, отличный от первого (в 21 (42%) случае — 3 генотип, в 1 (2%) случае — 2 генотип).

Таким образом, определение принадлежности HCV к определенному субтипу в данном исследовании и частота встречаемости изолятов вируса гепатита С подтверждают известные данные о тотальном преобладании подтипа 1b среди популяции российских пациентов, инфицированных 1 генотипом HCV [5–7]. Генотипическая структура вируса гепатита С, отличного от 1 генотипа, показала доминирование 3 генотипа.

Анализ двух основных однонуклеотидных замен в регионе, примыкающем к гену IL-28B [8-9], — rs12979860 (замена цитозина на тимин, C>T) и rs8099917 (замена тимина на гуанин, T>G) среди всех 150 включенных в исследование пациентов показал преобладание носителей аллелей T/C в регионе rs 12979860 (50,7%). У 16,7% человек обнаруживался генотип T/T, имеющий отрицательное предсказательное значение в достижении вирусологического ответа. Наиболее благоприятный тип полиморфизма C/C, отвечающий за адекватную индукцию IL-28B и, соответственно, интерферон-стимулированных генов, что реализуется в высокую частоту ответа, диагностирован у трети (32,7%) испытуемых. Анализ полиморфизмов единичных нуклеотидов rs 8099917 (T>G) гена IL-28B в исследуемой популяции показал преобладание набора благоприятных прогностических вариантов генотипов (T/T и T/G), регистрирующихся примерно с одинаковой частотой (48,7% и 44% соответственно). Полиморфизм G/G, ассоциирующийся с низким уровнем ответа на терапию пегилированными интерферонами и рибавирином, обнаружен в 7,3% случаев.

Аналогичная тенденция в распределении генетических полиморфизмов IL-28B наблюдалась и в каждой группе пациентов, отражая общую частоту выявленных генотипов в исследуемой популяции, и не имела статистически значимых различий между группами, в том числе при анализе данных в подгруппах в зависимости от генотипа HCV (табл. 2).

Сравнительный анализ частоты достижения быстрого вирусологического ответа (БВО) после 4 недель терапии, который диагностировался как снижение вирусной нагрузки ниже предела детекции (15 МЕ/мл), в группах не выявил статистически достоверных различий между ними. Так, в 1-й группе (Альгерон 1,5 мкг/кг) БВО регистрировался в 64% случаев, во 2-й группе — в 56%, в 3-й группе (ПегИнtron) — в 66%. χ^2 при сопоставлении 1-й и 3-й групп составил 0,9999, OR = 1,1 (95% ДИ 0,5–2,5), при сравнении групп 2 и 3 χ^2 = 0,4, OR = 1,5 (95% ДИ = 0,7–3,4).

Таблица 2

Распределение пациентов в исследуемых группах в зависимости от типа полиморфизма rs12979860 (C>T) и rs8099917 (T>G) гена IL-28B

Тип нуклеотидных замен в регионе IL-28B	Тип полиморфизма IL-28B	Альгерон 1,5 мкг/кг (n = 50), абс/%	Альгерон 2,0 мкг/кг (n = 50), абс/%	ПегИнtron 1,5 мкг/кг (n = 50), абс/%
rs12979860 (C>T)	C/C	19/38	17/34	13/26
	T/C	24/48	26/52	26/52
	T/T	7/14	7/14	11/22
rs8099917 (T>G)	T/T	25/50	28/56	20/40
	G/T	22/44	20/40	24/48
	G/G	3/6	2/4	6/12

Среди пациентов с 1 генотипом HCV БВО достигнут в 1-й группе в 42,3% случаев, во 2-й — в 22,2%, в 3-й — в 42,9%. χ^2 при сравнении частоты БВО в 1-й и 3-й группах составил 0,8, при сопоставлении 2-й и 3-й групп — 0,18. У пациентов с генотипом HCV, отличным от первого, БВО зарегистрирован в 1-й группе в 87,5% случаев, во 2-й группе — в 95,7%, в группе сравнения — в 95,5%. Двусторонний ТКФ составил 0,6 и 1 при сопоставлении групп 1 и 3 и групп 2 и 3 соответственно.

Основной целью исследования являлось доказательство не меньшей эффективности («non-inferiority») исследуемого препарата Альгерон, применяемого в дозах 1,5 мкг/кг и 2,0 мкг/кг, по сравнению с ПегИнтроном в достижении раннего вирусологического ответа (РВО).

РВО констатировался при наличии отрицательного результата ПЦР на HCV-РНК (ниже предела детекции 15 МЕ/мл) — полный РВО либо снижении вирусемии в ≥ 100 раз ($2\log_{10}$) после 12 недель лечения — частичный РВО.

Частота достижения РВО в группах Альгерона (независимо от назначенной дозы — 1,5 или 2,0 мкг/кг) составила 94%, в группе сравнения (ПегИнтрон) — 88% (mITT-анализ, двусторонний ТКФ=0,5, OR=2,14 (95% ДИ 0,5-9,06) при сравнении 1 и 3 группы и 2 и 3 группы). Полный РВО зарегистрирован в 88% и 84% в группах пациентов, получавших 1,5 и 2,0 мкг/кг Альгерона соответственно, в группе — ПегИнтрона — в 84%, что не имело статистически значимой разницы между всеми исследуемыми группами (табл. 3).

mITT-анализ частоты наличия РВО в зависимости от генотипа вируса также не выявил статистических различий в группах. У участников исследования 1 группы, которым был назначен Альгерон в дозе 1,5 мкг/кг, РВО наблюдался у 100% лиц с 2 или 3 генотипом вируса. В подгруппе пациентов с 1 генотипом лишь у 3 больных не отмечалось РВО, в остальных 88,5% случаев ответ был достигнут. В группе 2 (Альгерон 2,0 мкг/кг) РВО отмечался в 95,7% случаев среди инфицированных 2 или 3 генотипом вируса и в 92,6% — среди пациентов с 1 генотипом. В группе сравнения, пациенты которой получали ПегИнтрон, частота РВО у больных, имевших 2 или 3 генотип вируса, зарегистрирован в 95,5% случаев, среди пациентов с 1 генотипом — в 82,1% случаев (см. табл. 3).

Дополнительно для оценки частоты вирусологического ответа на 12-й неделе терапии использовался per-protocol analysis, который включал данные всех пациентов, прошедших 12-недельный курс лечения. Среди пациентов, получавших в рамках комбинированной терапии ХГС Альгерон в дозе 1,5 мкг/кг в сочетании с рибавирином, все пациенты закончили 12-недельный курс лечения. Во 2-й группе (Альгерон 2,0 мкг/кг) 1 пациент выбыл вследствие добровольного отзыва согласия на участие в исследовании и 1 человек исключен по причине нежелательного явления (нейтропения менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$). В группе больных, получавших ПегИнтрон, 2 человека выбыли досрочно до 12-й недели терапии по причине развития нежелательных явлений (в одном случае имела место нейтро-

Таблица 3

Частота достижения РВО в исследуемых группах при использовании mITT и per protocol-анализа

mITT-анализ	Альгерон 1,5 мкг/кг (n = 50)			Альгерон 2,0 мкг/кг (n = 50)			ПегИнтрон 1,5 мкг/кг (n = 50)		
	Все генотипы (n = 50), абс. (%)	1 генотип HCV (n = 26), абс. (%)	2, 3 генотип HCV (n = 24), абс. (%)	Все генотипы (n = 50), абс. (%)	1 генотип HCV (n = 27), абс. (%)	2, 3 генотип HCV (n = 23), абс. (%)	Все генотипы (n = 50), абс. (%)	1 генотип HCV (n = 28), абс. (%)	2, 3 генотип HCV (n = 22), абс. (%)
Наличие РВО	47 из 50 (94%)	23 из 26 (88,5%)	24 из 24 (100%)	47 из 50 (94%)	25 из 27 (92,6%)	22 из 23 (95,7%)	44 из 50 (88%)	23 из 28 (82,1%)	21 из 22 (95,5%)
Наличие полного РВО	44 из 50 (88%)	20 из 26 (76,9%)	24 из 24 (100%)	42 из 50 (84%)	20 из 27 (74,1%)	22 из 23 (95,7%)	42 из 50 (84%)	21 из 28 (75%)	21 из 22 (95,5%)
Per protocol-анализ	Альгерон 1,5 мкг/кг/нед + RBV (n = 50)			Альгерон 2,0 мкг/кг/нед + RBV (n = 48)			ПегИнтрон 1,5 мкг/кг/нед + RBV (n = 48)		
	Все генотипы (n = 50), абс. (%)	1 генотип HCV (n = 26), абс. (%)	2, 3 генотип HCV (n = 24), абс. (%)	Все генотипы (n = 48), абс. (%)	1 генотип HCV (n = 26), абс. (%)	2, 3 генотип HCV (n = 22), абс. (%)	Все генотипы (n = 48), абс. (%)	1 генотип HCV (n = 27), абс. (%)	2, 3 генотип HCV (n = 21), абс. (%)
Наличие РВО	47 из 50 (94%)	23 из 26 (88,5%)	24 из 24 (100%)	47 из 48 (97,9%)	25 из 26 (96,2%)	22 из 22 (100%)	44 из 48 (91,7%)	23 из 27 (85,2%)	21 из 21 (100%)
Наличие полного РВО	44 из 50 (88%)	20 из 26 (76,9%)	24 из 24 (100%)	42 из 48 (87,5%)	20 из 26 (76,9%)	22 из 22 (100%)	41 из 48 (85,4%)	20 из 27 (74,1%)	21 из 21 (100%)

$p > 0,05$ при сравнении всех соответствующих показателей между группами и подгруппами в зависимости от генотипа HCV.

пения менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$, в другом — анемия со снижением уровня гемоглобина до 66 г/л). Таким образом, в анализ per-protocol включены данные 50 пациентов 1-й группы, 48 человек 2-й и 48 пациентов 3-й группы. Показано, что пациенты с 2 или 3 генотипом в 100% случаев имели РВО независимо от препарата и дозы. Среди пациентов с 1 генотипом HCV, прошедших полный 12-недельный курс терапии, РВО зафиксирован в 88,5% случаев в 1-й группе, в 96,2% — во 2-й группе и в 85,2% случаев — в группе сравнения ($p > 0,05$) (см. табл. 3).

На основании сывороточной концентрации АЛТ, отражающей степень цитолитических процессов в печени, оценивалась частота достижения биохимического ответа, которая рассчитывалась как доля больных (%) с зарегистрированным уровнем АЛТ ≤ 40 Ед/л для мужчин и ≤ 31 Ед/л для женщин (согласно референсным значениям лаборатории) после 12 недель терапии. Для оценки биохимического ответа проанализирована динамика нормализации уровня АЛТ в группах с учетом ИТТ-принципа, согласно которому отсутствующие данные пациентов, выбывших досрочно до 12-й недели, расценивались как значения, превышающие референсные показатели АЛТ.

В общей сложности в группах пациентов, получавших Альгерон в дозе 1,5 мкг/кг или 2,0 мкг/кг, уровень АЛТ в пределах референсных значений после 12 недель регистрировался у 35 из 50 человек (70%), в группе ПегИнтрона — у 40 из 50 (80%) (значение p (χ^2 с поправкой Йетса) при сравнении 1-й и 3-й групп, а также 2-й и 3-й групп составило 0,35). При анализе частоты достижения биохимического ответа в подгруппах в зависимости от генотипа HCV также не выявлено статистически значимых отличий.

Профиль безопасности использования Альгерона в дозировках 1,5 мкг/кг и 2,0 мкг/кг был аналогичен таковому у ПегИнтрона. Не отмечено статистически значимых различий в частоте развития типичных для пегилированных интерферонов лабораторных отклонений, в том числе лейко- и нейтропении, между всеми тремя исследуемыми группами. Однако при использовании большей дозы Альгерона более часто требовалось корректировать вводимые дозы вследствие нежелательных явлений, а также использовать филграстим для коррекции нейтропении. Кроме того, при сопоставлении выраженности и частоты местных реакций при введении препаратов не было обнаружено статистически значимой разницы между тремя группами, в то же время прослеживалась тенденция к меньшей частоте регистрации местных проявлений в группе Альгерона 1,5 мкг/кг по сравнению как с группой Альгерона 2,0 мкг/кг, так и группой ПегИнтрона. Наиболее часто регистрирующимися клиническими нежелательными

явлениями были гриппоподобный синдром, астения, тошнота, диарея, кожный зуд, боли в мышцах и суставах, депрессия (табл. 4). Отмечена более низкая частота регистрации гриппоподобного синдрома в группе Альгерона 1,5 мкг/кг по сравнению с группой ПегИнтрона — 82% vs. 98% (двусторонний ТКФ = 0,02). Кроме того, наблюдались также различия между этими группами по частоте необходимости использования нестероидных противовоспалительных препаратов для купирования симптомов в рамках гриппоподобного синдрома ($\chi^2 = 0,02$).

Представленные результаты первых 12 недель терапии ранее не леченных препаратами интерферонов взрослых пациентов с ХГС позволяют заключить, что инновационный препарат пегилированного интерферона альфа-2b Альгерон оказывает выраженное противовирусное действие и обладает благоприятным профилем безопасности, не уступая по данным параметрам зарегистрированному препарату ПегИнtron, признанному стандартным средством лечения гепатита С.

Результаты проведенного исследования демонстрируют отсутствие различий в частоте достижения быстрого (после 4 нед.) и раннего (после 12 нед.) вирусологических ответов, биохимического ответа между группами пациентов, получавших терапию Альгероном в дозах 1,5 и 2,0 мкг/кг и ПегИнтроном, в том числе при анализе полученных данных в подгруппах больных в зависимости от генотипа HCV.

Как известно, частота РВО обладает высокой предиктивной ценностью в прогнозировании успешности проводимого лечения ХГС и достижения устойчивого вирусологического ответа [10–12]. Поэтому возможна экстраполяция результатов первых 12 недель терапии на эффективность противовирусной терапии в целом, что позволяет с известной долей вероятности прогнозировать достижение стойкого ответа на лечение. Отсутствие разницы в эффективности и более благоприятный профиль безопасности меньшей дозировки исследуемого препарата позволили сделать вывод об оптимальной терапевтической дозе Альгерона, равной 1,5 мкг/кг.

Выводы

1. Применение препарата Альгерон в дозах 1,5 и 2,0 мкг/кг/нед в комбинации с рибавирином в дозе 800–1400 мг/сут в рамках терапии ХГС у ранее не леченных пациентов характеризуется высокой эффективностью в достижении БВО и РВО, биохимического ответа. Статистически значимых различий по данным параметрам с препаратом сравнения ПегИнtron не обнаружено.

2. Использование Альгерона в терапии ХГС характеризуется приемлемым профилем безопас-

Таблица 4

**Наиболее часто регистрирующиеся нежелательные явления и лабораторные отклонения
в исследуемых группах**

Нежелательное явление	Альгерон 1,5 мкг/кг, абс/%	Альгерон 2,0 мкг/кг, абс/%	ПегИнтрон 1,5 мкг/кг, абс/%
Гриппоподобный синдром	41/82	47/94	49/98*
Астения	14/28	18/36	15/30
Депрессия	5/10	5/10	4/8
Тошнота	8/16	8/16	7/14
Диарея	6/12	6/12	5/10
Алопеция	4/8	3/6	7/14
Кожный зуд	7/14	11/22	7/14
Миалгия	5/10	5/10	5/10
Артралгия	5/10	6/12	4/8
Нейтропения 2 степени	17/34	16/32	9/18
Нейтропения 3 степени	12/24	11/22	12/24
Тромбоцитопения 1 степени	19/38	18/36	23/46
Тромбоцитопения 2 степени	3/6	2/4	2/4
Тромбоцитопения 3 степени	—	2/4	2/4
Потребность в коррекции дозы ИФН вследствие лейко-, нейтро- или тромбоцитопении	2/4	5/10	5/10
Отмена терапии вследствие нейтропении	—	1/2	1/2
Потребность в использовании филграстима	1/2	7/14	4/8
Потребность в коррекции дозы Ребетол из-за анемии	1/2	4/8	7/14
Гиперемия 1 степени в месте введения	15/30	10/20	16/32
Гиперемия 2 степени в месте введения	13/26	17/34	19/37

*p<0,05.

ности с наличием характерных для всех вводимых парентерально препаратов интерферона нежелательных явлений. При сравнительной оценке выраженности и частоты развития нежелательных явлений можно констатировать, что в целом они сопоставимы с таковыми при использовании зарегистрированного препарата ПегИнтрон.

3. Высокая эффективность Альгерона в достижении БВО и РВО, а также их высокая предсказательная ценность в успешности достижения устойчивого вирусологического ответа при лечении HCV-инфекции позволяют рекомендовать применение Альгерона в дозе 1,5 мкг/кг/нед в комбинации с рибавирином в терапии хронического гепатита С у ранее не применявших ПВТ пациентов.

Литература

1. Lavanchy, D. The global burden of hepatitis C / D. Lavanchy // *Liver Int.* — 2009. — № 29 (suppl 1). — P. 74–81.

2. Sheppard, C.W. Global epidemiology of hepatitis C virus infection / C.W. Sheppard, L. Finelli, M.J. Alter // *Lancet Infect. Dis.* 2005. — № 5. — P. 558–567.

3. Ющук, Н.Д. Протокол диагностики и лечения больных вирусными гепатитами В и С / Н.Д. Ющук [и др.] // *РЖГГК.* — 2010. — № 6. — С. 5–60.

4. Reddy, K.R. Efficacy and safety of pegylated (40-kd) interferon alpha-2a compared with interferon alpha-2a in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C / K.R. Reddy [et al.] // *Hepatology.* — 2001. — № 33 (2). — P. 433–438.

5. Кузин, С.Н. Распространение гепатита С и отдельных генотипов вируса гепатита С в регионе с умеренной активностью эпидемического процесса / С.Н. Кузин [и др.] // *Вопросы вирусологии.* — 1999. — № 2. — С. 79–82.

6. Shustov, A. The prevalence, subtype distribution and molecular variability of hepatitis C virus (HCV) in the territory of Western Siberia / A. Shustov [et al.] // *Xlth Intern. Congress of Virology.* Sydney, Australia. — 1999. — P. 279.

7. Быстрова, Т.Н. Характеристика репликативной формы хронического гепатита С / Т.Н. Быстрова, М.К. Абрамова, Ю.В. Михайлова // *Инфекция и иммунитет.* — 2012. — Т. 2, № 1–2. — С. 436.

8. Ge, D. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance / D. Ge [et al.] // Nature. — 2009. — № 461. — P. 798–401.

9. Starmayer, A.F. Impact of IL28B genotype on the early and sustained virologic response in the treatment-naïve patients with chronic hepatitis C / A.F. Starmayer [et al.] // Clin. Gastroenterol. Hepatol. — 2011. — №9. — P. 344–350.

10. Lee, S.S. Prognostic factors and early predictability of sustained viral response with peginterferon alfa-2a (40KD) / S.S. Lee [et al.] // J. Hepatol. — 2002. — № 37 (4). — P. 500–506.

11. Marcellin, P. Differentiation of early virologic response (EVR) into RVR, complete EVR (cEVR) and partial EVR (pEVR) allows for a more precise prediction of SVR in HCV genotype 1 patients treated with peginterferon alfa-2a (40KD) (PEGASYS) and ribavirin (COPEGUS) / P. Marcellin [et al.] // 58th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD), Boston, MA November 2–6, 2007.

12. Богословская, Е.В. Оценка эффективности противовирусной терапии хронического гепатита С в максимально ранние сроки / Е.В. Богословская [и др.] // РЖГТК. — 2007. — № 2. — С. 36–39.

Авторский коллектив:

Знойко Ольга Олеговна — профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова, врач-инфекционист Инфекционной клинической больницы № 1, д.м.н.; тел.: 8(495)490-44-39, e-mail: OlgaZnoyko@yandex.ru

Маевская Марина Викторовна — профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, д.м.н.; тел.: 8(499)248-35-33, e-mail: liver.org@mail.ru

Климова Елена Анатольевна — профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова, врач-инфекционист Инфекционной клинической больницы № 1, д.м.н., тел.: 8(495)490-44-39, e-mail: elena_klimova@mail.ru

Максимов Семен Леонидович — доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова, врач-инфекционист клинической психиатрической больницы № 3 им. В.А. Гиляровского, д.м.н., тел.: 8(495)365-24-85, e-mail: maximov_s@bk.ru

Кижло Светлана Николаевна — заведующая отделением Санкт-Петербургского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, тел.: 8-921-934-47-11, e-mail: skizhlo@yandex.ru

Петроченкова Наталья Анатольевна — старший научный сотрудник Смоленской государственной медицинской академии, к.м.н., доцент, тел.: 8-910-721-11-37, e-mail: ariadna@antibiotic.ru

Нагимова Фирая Идиятуловна — заместитель главного врача по медицинской части Республиканского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, к.м.н., заслуженный врач Республики Татарстан, тел.: 8-987-297-89-66, e-mail: nagimova@list.ru

Иванов Роман Алексеевич — вице-президент по разработкам и исследованиям ЗАО «БИОКАД», к.м.н., тел.: 8(812)380-49-33, e-mail: ivanov@biocad.ru

Линькова Юлия Николаевна — медицинский советник ЗАО «БИОКАД», к.м.н., тел.: 8-981-788-08-23, e-mail: Linkova@biocad.ru

Черновская Татьяна Вениаминовна — директор департамента биохимии ЗАО «БИОКАД», к.м.н., тел.: 8-915-499-61-57, e-mail: chernovskaya@biocad.ru

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ, ПОВРЕЖДЕНИЯ И РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ HBV- И HCV-ИНФЕКЦИИ

В.Е. Карев¹, Ю.В. Лобзин¹, В.А. Цинзерлинг²

¹ Научно-исследовательский институт детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург

² Научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург

The comparative description of clinical course, injury and regeneration of liver while chronic HBV- and HCV- infections course

V.E. Karev¹, Yu.V. Lobzin¹, V.A. Cinslerling²

¹ Science Research Institute of Children's Infections FMBA of Russia, Saint-Petersburg

² Science Research Institute of Phthisiopulmonology, Saint-Petersburg

Резюме. Проведен сравнительный анализ эпидемиологических, клинических, морфологических и иммуноморфологических особенностей хронического гепатита и цирроза печени, вызванных вирусами гепатита В и С. Выявлены социальные, эпидемиологические и клинические особенности хронической HCV-инфекции, способствующие ее широкой распространенности. Изучены особенности повреждения и регенерации печени на разных этапах естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции, обусловленные разным патогенезом и лежащие в основе различных клинических и морфологических проявлений. Различный уровень повреждения гепатоцитов на разных этапах естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции обусловлен особенностями местного клеточного иммунного ответа. Различный регенераторный потенциал гепатоцитов на разных этапах естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции — высокий и обеспечивающий сохранение функции печени при сохраняющемся повреждении гепатоцитов на этапе хронического гепатита и низкий, приводящий к прогрессированию печеночной недостаточности на этапе декомпенсированного цирроза печени.

Ключевые слова: HBV, HCV, хронический гепатит, цирроз печени, патогенез, повреждение, регенерация.

Abstract. The comparative test of epidemiological, clinical, morphological and immunomorphological peculiarities of chronic hepatitis and liver cirrhosis, caused by viruses hepatitis B and C, has been made. Social, epidemiological and clinical peculiarities of chronic HCV-infection, which contribute this infection to spread, have been revealed.

The specific features of injury and regeneration of liver at different stages of natural course of chronic HBC- and HCV-infections, conditioned by different pathogenesis and underlying in basis of clinical and morphological presentations, have been explored. Various injury levels of hepatocytes at different stages of natural course of chronic HBV- and HCV-infections are conditioned by the peculiarities of the local cell immune reaction. The varied regenerative potential of hepatocytes at different stages of natural course of HBV- and HCV- infections might be high and ensuring the preservation of the liver function while the injury of hepatocytes retains on the stage of chronic hepatitis, and it might be low, resulting in the liver insufficiency progress on the stage of decompensate cirrhosis of liver.

Key words: HBV, HCV, chronic hepatitis, liver cirrhosis, pathogenesis, injury, regeneration.

Введение

Хронические заболевания печени, ассоциированные с HBV и HCV, ввиду их широкой распространенности, высокого уровня заболеваемости среди лиц молодого возраста, частых неблагоприятных исходов с инвалидизацией и значительной летальностью на определенных этапах естественного течения представляют собой одну из актуальных проблем современной медицины [3, 8, 10]. Большинство специалистов рассматривают патологические состояния, вызываемые HBV и HCV, как единый поступательный процесс — от острого гепатита (ОГ) через хронический гепатит

(ХГ) и цирроз печени (ЦП) к гепатоцеллюлярной карциноме (ГЦК) [1, 10]. Объединяющими факторами для ХГ и ЦП являются вирусы гепатита В и С и хроническое воспаление печени, в основе которого лежат повреждение, регенерация и прогрессирующий фиброгенез [6, 7]. Вместе с тем, для каждой нозологической формы заболевания характерно преобладание одного из перечисленных процессов. Для ХГ наиболее характерно преобладание повреждения и регенерации; для ЦП, наряду с сохраняющимся повреждением и непрерывной регенерацией, характерно преобладание процессов несбалансированного фиброгенеза [6, 7].

Различный патогенез хронической HBV- и HCV-инфекции с различными механизмами повреждения и регенерации печени обуславливает особенности клинического течения и морфологической картины [2, 4, 5, 9], а также различную частоту развития неблагоприятных исходов при хронической HBV- и HCV-инфекции.

Цель исследования — уточнение патогенетических механизмов и взаимосвязей клинко-биохимических, морфологических и иммуноморфологических показателей, характеризующих процессы повреждения и регенерации печени у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV.

Задачи исследования — выявить клинко-морфологические особенности течения, содержание CD4 и CD8 Т-лимфоцитов в воспалительном инфильтрате печени, повреждения и пролиферации гепатоцитов при ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV.

Материалы и методы

Проведен анализ клинических, эпидемиологических, морфологических и иммуногистохимических (ИГХ) данных у 110 больных ХГС, 57 больных ХГВ, 26 больных ЦПС и 25 больных ЦПВ. Формирование исследованных групп осуществлялось методом слепой выборки. Для морфологического исследования образцы ткани печени фиксировали 10% нейтральным формальдегидом, проводили через восходящие спирты по общепринятой методике, заливались в парафин. Приготовленные из парафиновых блоков срезы ткани толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван-Гизону. Полуколичественно определяли индекс гистологической активности (ИГА) и стадию заболевания по степени выраженности фиброза (по Knodell) [11]. ИГХ-исследования выполнялись в биоптатах печени 29 больных ХГС и 29 больных ХГВ, а также в ткани печени у 5 больных, умерших от декомпенсированного ЦПС, и 5 больных, погибших от декомпенсированного ЦПВ. ИГХ-исследования проводили в срезах толщиной 4 мкм, приготовленных из залитого в парафин материала. Определялось относительное содержание CD4- и CD8-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек и относительное содержание Ki67-позитивных гепатоцитов в паренхиме печени, отражающих выраженность пролиферации гепатоцитов. Использовались мышиные моноклональные антитела к CD4 (в разведении 1/40), к CD8 (в разведении 1/40), к Ki-67 (в разведении 1/200) производства Novocastra Laboratories Ltd (Великобритания), а также полимерная ИГХ-система EnVision (DAKO, США) согласно рекомендациям изготовителей. Подсчет

CD4-, CD8-позитивных лимфоцитов производился в 6 полях зрения (по 3 поля из центролобулярных отделов и по 3 поля из парабазальных отделов разных печеночных долек) при увеличении $\times 400$. Подсчитывалось соотношение CD4-позитивных или CD8-позитивных лимфоцитов ко всем внутридольковым лимфоцитам. Оценка экспрессии Ki-67 в ткани печени осуществлялась путем вычисления индекса пролиферации с определением процентного соотношения Ki-67-позитивных гепатоцитов к общему числу гепатоцитов. Измерения производились в 6 полях зрения (по 3 поля из центролобулярных отделов и по 3 поля из парабазальных отделов разных печеночных долек) при увеличении $\times 400$. В качестве контроля при проведении ИГХ-исследований использовались образцы ткани печени 5 умерших от различных заболеваний. Критерием отбора контрольной группы являлось отсутствие клинко-биохимических, серологических и морфологических признаков поражения печени. Достоверность различий между сравниваемыми параметрами оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента. Корреляционные зависимости определялись непараметрическим критерием Спирмана. При обработке материала использовался пакет компьютерных программ STATISTIKA 5.5.

Результаты и обсуждение

Хронические HCV- и HBV-инфекции в виде ХГ, по нашим данным, наиболее часто встречались у лиц молодого возраста (средний возраст больных ХГС $26,7 \pm 10,1$ лет, больных ХГВ $22,1 \pm 6,7$ лет), средняя длительность заболевания у большинства пациентов ХГ не превышала 10 лет (у 93% больных ХГС и 84% больных ХГВ, $p > 0,05$). Декомпенсированный ЦП с летальным исходом наблюдался у пациентов более старшего возраста ($p < 0,05$), средняя продолжительность жизни больных ЦПС ($46,0 \pm 13,6$ лет) была на 20 лет меньше, чем больных ЦПВ ($67,8 \pm 5,3$ лет), $p < 0,05$. Анализ данных анамнеза, клинического наблюдения, результатов лабораторных исследований показал общность эпидемиологии и клинического течения ХГ, вызываемых HBV и HCV. Вместе с тем, некоторые эпидемиологические аспекты хронической HCV-инфекции могли бы обусловить более высокую распространенность ХГС, в частности, больные ХГС чаще парентерально употребляли наркотические препараты ($p < 0,05$), а также чаще имели половые отношения с больными ХГ ($p < 0,05$). А учитывая ориентировочные сроки начала заболевания (более 10 лет), на которые чаще, чем больные ХГВ ($p < 0,05$), указывали пациенты из группы больных ХГС, и средний возраст больных в этой группе ($25,5 \pm 9,2$ года), инфицирование HCV чаще происходило в подростковом возрасте.

Некоторые клинические особенности, а именно более ранняя клиническая манифестация HBV-инфекции, когда больные с HBV-инфекцией чаще впервые госпитализировались по поводу ОГ ($p<0,05$), и более стертая клиническая картина манифестации HCV-инфекции, когда больные впервые были госпитализированы лишь по поводу развития ХГС, также может способствовать бесконтрольному распространению HCV-инфекции. Среди клинических симптомов, большей частью схожих у больных ХГС и ХГВ, отмечена более частая выявляемость у больных ХГС слабости ($p=0,05$), снижения аппетита ($p<0,05$), лихорадки ($p<0,05$), а также более частое обнаружение пальмарной эритемы ($p<0,05$). И у больных ХГС, и у больных ХГВ отмечалось преобладание безжелтушных форм ХГ ($p>0,05$), однако при анализе данных клинико-биохимических исследований отмечена более часто встречающаяся у больных ХГС гиперферментемия по уровню содержания в сыворотке крови АлАт ($p=0,01$). Особого внимания заслуживает тот факт, что HBsAg в сыворотке крови у больных ХГВ был выявлен лишь у 31,5% больных, тогда как остальные 68,5% больных ХГВ являлись HBsAg-негативными, что при скрининговом обследовании населения делает исследование только этого показателя малоинформативным.

Анализ эпидемиологических и клинико-лабораторных данных показал схожесть клинических проявлений и лабораторных показателей у больных ЦПС и ЦПВ. Течение заболевания в обеих группах было чаще малосимптомным на протяжении многих лет, сроки заболевания не смогли указать 68% больных ЦПВ и 34,6% больных ЦПС ($p>0,05$). Возможно, адекватной оценке собственного состояния препятствовала алкогольная зависимость у большинства пациентов как в группе больных ЦПС, так и в группе больных ЦПВ ($p>0,05$). Больные ЦПС и ЦПВ поступали в стационар с теми же жалобами ($p>0,05$) и ведущими клиническими синдромами ($p>0,05$), обусловленными декомпенсированным ЦП. При схожести глубоко измененных клинико-лабораторных показателей и однотипной клинической картине заболевания у больных ЦПС и ЦПВ отмечался более высокий уровень повреждения гепатоцитов в виде более выраженного цитолитического синдрома у больных ЦПВ ($p<0,05$).

Средняя длительность течения ХГ без признаков значимого фиброза (F0) была достоверно меньше у больных ХГС ($55,62\pm37,67$ месяцев), чем у больных ХГВ ($92,38\pm67,67$ месяца) при $p=0,02$, что свидетельствует о возможности более длительного «мягкого» периода течения заболевания у больных ХГВ (табл. 1).

Таблица 1

Средняя длительность заболевания у больных ХГС и ХГВ с различной степенью выраженности фиброза печени

Степень выраженности фиброза по Knodell	ХГС (n = 110)		ХГВ (n = 57)	
	Абс.	Средняя длительность болезни, мес.	Абс.	Средняя длительность болезни, мес.
Отсутствие фиброза (F0)	23	$55,62\pm37,67$ #	25	$92,38\pm67,67$
Расширение портальных трактов за счет фиброза (F1)	80	$55,37\pm45,10$	22	$42,35\pm57,11$ *
Порто-портальный или порто-центральный фиброз (F3)	6	$99,33\pm66,66$	9	$102,44\pm58,54$ *
Цирроз (F4)	1	8,0	1	24,0

— достоверное различие с соответствующей группой ХГВ ($p<0,05$),

* — достоверное различие между сравниваемыми группами ($p<0,05$).

У пациентов с начальными признаками фиброза при сохранении правильного строения печеночной ткани наблюдалось расширение портальных трактов за счет фиброза (F1), в части наблюдений сочетающегося с перипортальным сегментарным фиброзом, вследствие которого портальные тракты приобретали «звездчатый» вид (рис. 1).

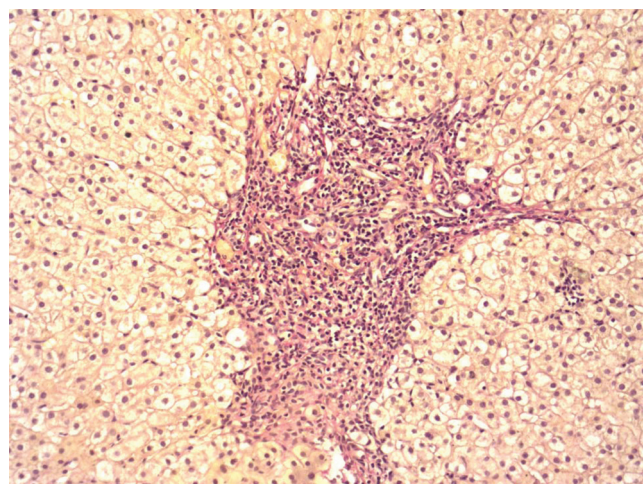


Рис. 1. Расширение портального тракта за счет фиброза стромы и перипортальный сегментарный фиброз, придающий портальному тракту «звездчатый» вид, у больного ХГС с умеренно выраженным фиброзом (F1). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону. Ув. $\times 200$

Длительность течения гепатита при этом, достоверно не различаясь в группах больных ХГС и ХГВ, была такой же, как и у пациентов с ХГС с умеренным фиброзом (F1), что косвенно указы-

вает на различные варианты течения (прогрессирования) ХГС: с быстрым прогрессированием фиброза печени и без него. Более длительные сроки течения ХГС и ХГВ закономерно приводили к утяжелению выраженности фиброза печени, характеризовавшегося появлением в паренхиме печени завершенных и незавершенных неваккуляризованных порто-портальных или порто-центральных септ, не приводящих, однако, к изменению ангиоархитектоники печени (F3). Нарастание явлений фиброза в печени сопровождалось, а исходя из патогенетических механизмов течения ХВГ, было обусловлено более выраженной гистологической активностью ХГ (табл. 2).

У больных ХГС и ХГВ без признаков значимого фиброза печени (F0) гистологическая активность гепатита была минимальной или слабой и в среднем составляла $3,69 \pm 2,26$ балла у больных ХГС и $3,72 \pm 1,92$ балла у больных ХГВ ($p > 0,05$). При нарастании степени выраженности фиброза до стадии F1 наблюдалось увеличение гистологической активности ХГ, более выраженное у пациентов с ХГС (средний ИГА у больных ХГС $9,47 \pm 2,44$ балла, у больных ХГВ $6,86 \pm 2,39$ балла, $p < 0,05$). Больные ХГС и ХГВ с тяжелым фиброзом (F3) переносили гепатит с более высокой гистологической активностью (средний ИГА у больных ХГС $12,83 \pm 1,83$ балла, у больных ХГВ $12,11 \pm 2,52$ балла, $p > 0,05$).

Среди наиболее часто встречающихся при ХГС и характерных для него морфологических признаков следует выделить более выраженный ($p = 0,01$) перипортальный сегментарный фиброз, при котором портальные тракты приобретают «звездчатый» вид; более выраженную при умеренной и высокой гистологической активности ($p = 0,01$) преимущественно CD8-клеточную инфильтрацию стромы портальных трактов с формированием в них подобий лимфоидных фолликулов (рис. 2); преимущественно альтеративные изменения билиарного эпителия, развивающиеся при нарастании тяжести гепатита ($p < 0,05$); более выраженную внутридольковую CD8-клеточную инфильтрацию ($p < 0,05$) и значительное изменение морфологических характеристик внутридольковых CD68-позитивных макрофагов в виде их увеличения в размерах по сравнению с ХГВ более чем в три раза ($p < 0,05$), вместе создающих картину «повышенной клеточности» и формирования «цепочек» внутри печеночных долек при ХГС при одинаковой степени выраженности ИГА; значительно менее выраженный ядерный полиморфизм и гиперхроматоз ядер гепатоцитов ($p < 0,05$), а также более частое, чем при ХГВ, появление мелких матово-оксифильных внутриядерных включений как при низкой, так и при высокой гистологической активности гепатита ($p = 0,05$); более часто встречающуюся балонную дистрофию гепатоци-

тов как при низкой активности гепатита ($p = 0,05$), так и при более высокой гистологической активности ($p = 0,01$). Жировая дистрофия гепатоцитов не являлась специфичной для ХГС и одинаково часто наблюдалась при ХГВ ($p > 0,05$) и, по всей видимости, была обусловлена злоупотреблением алкоголем пациентами обеих групп.

Среди наиболее часто встречающихся морфологических признаков ХГВ следует отметить наличие более выраженного, чем при ХГС, ядерного полиморфизма и гиперхроматоза ядер гепатоцитов ($p < 0,05$), более частого выявления крупных матово-оксифильных внутриядерных включений («песочные ядра») ($p < 0,05$) и «матово-стекловидных» гепатоцитов при любой тяжести гепатита ($p = 0,01$).

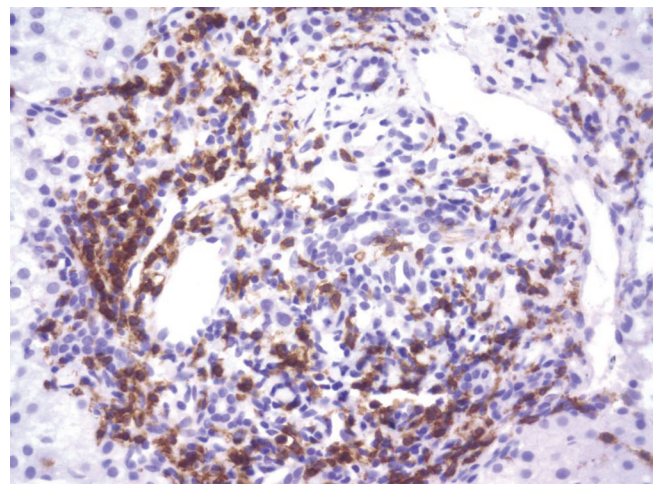


Рис. 2. Инфильтрация стромы портального тракта преимущественно CD8+ у больного ХГС с умеренной гистологической активностью (ИГА по Knodell 12 баллов). ИГХ. Ув. $\times 400$

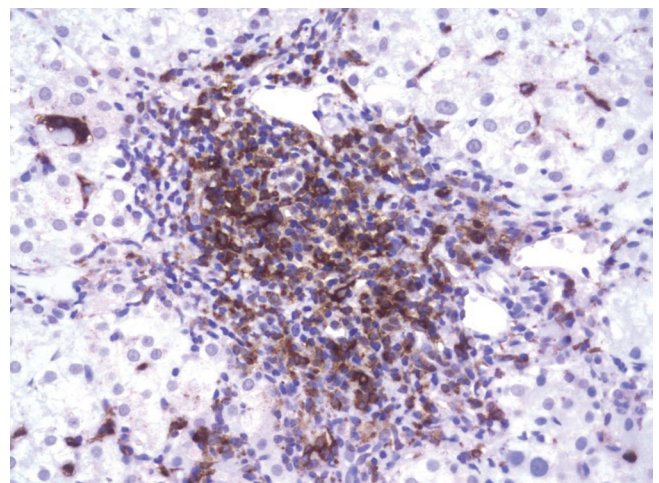


Рис. 3. Выраженная CD68+ инфильтрация стромы портального тракта у больного ХГС с умеренной гистологической активностью (ИГА по Knodell 12 баллов). ИГХ. Ув. $\times 400$

К прочим морфологическим особенностям, отличающим ХГС от ХГВ, относится более выраженная CD68-клеточная инфильтрация стромы портальных трактов ($p=0,03$) (рис. 3), а также абсолютная CD4-клеточная «лимфопения» в строме портальных трактов ($p=0,01$) при ХГС. В паренхиме печени при ХГС CD4-клеточная лимфопения была также выражена значительно, чем при ХГВ ($p<0,05$).

Таблица 2

Средний ИГА (по Knodell) у больных ХГС и ХГВ с разной степенью выраженности фиброза

Степень выраженности фиброза по Knodell	ХГС (n = 110)		ХГВ (n = 57)	
	Абс.	Ср. ИГА, баллы	Абс.	Ср. ИГА, баллы
Отсутствие фиброза (F0)	23	3,69±2,26	25	3,72±1,92
Расширение портальных трактов за счет фиброза (F1)	80	9,47±2,44 #	22	6,86±2,39
Порто-портальный или порто-центральный фиброз (F3)	6	12,83±1,83	9	12,11±2,52
Цирроз (F4)	1	13,0	1	14,0

— достоверное различие с соответствующей группой ХГВ ($p<0,05$).

Результаты сравнительного анализа характерных для ХГС и ХГВ микроскопических изменений свидетельствуют о нивелировании большинства из этих характерных изменений на этапе ЦП, то есть патоморфологическая картина ЦПС и ЦПВ в большей степени схожа, чем отлична. Исключение составляют лишь матово-стекловидные гепатоциты и крупные матово-оксифильные внутриядерные включения («песочные ядра»), достоверно чаще встречающиеся при ЦПВ ($p=0,01$ и $p=0,01$ соответственно), что делает эти признаки характерными для ЦПВ. За схожестью морфологической картины при ЦПС и ЦПВ стоят принципиальные отличия, подчеркивающие разный патогенез HBV- и HCV-инфекции. Для ЦПС, в отличие от ЦПВ, при более интенсивной клеточной инфильтрации стромы и паренхимы печени характерны достоверно более низкий уровень содержания CD4- и CD8-позитивных лимфоцитов ($p=0,04$ и $p=0,0001$ соответственно), а также более высокий уровень содержания CD68-позитивных макрофагов.

На этапе ХГ выявлена положительная корреляционная связь между пролиферативной активностью гепатоцитов и выраженностью клинической (АлАТ) и морфологической (ИГА) активности па-

тологического процесса ($r=0,52$ и $r=0,65$ соответственно при ХГВ, $r=0,4$ и $r=0,45$ соответственно при ХГС) (табл. 3).

Таблица 3

Взаимосвязь пролиферативной активности гепатоцитов у больных ХГВ и ХГС с тяжестью патологического процесса (ИГА по Knodell)

ИГА	n C/B	Ki-67, % позитивных гепатоцитов (M±m)	
		HCV	HBV
1–3 (минимальная)	4/11	1,43±0,25 ^{1,2,*}	0,77±0,19 ^{1,2}
4–8 (слабая)	8/7	2,85±0,91	1,71±0,56 ³
9–12 (умеренная)	11/5	3,70±0,41 ^{1,*}	7,0±3,29 [*]
13–18 (тяжелая)	6/6	4,80±0,96 ^{2,*}	8,0±1,77 ^{1,3,*}
Контроль	5	1,14±0,57	

Индексы^{1,2} и др. указывают на достоверные различия между сравниваемыми группами;

* — на достоверные различия с контролем,

— на достоверные различия с ХГВ ($p<0,05$).

Установлены прямые ассоциативные связи пролиферативной активности гепатоцитов с показателями вирусной активности у больных ХГВ — выявлением ДНК HBV в ткани печени, HBsAg и HBcorAb IgM ($r=0,45$; $0,51$; $0,86$) в крови. В отличие от ХГВ, при ХГС выраженность экспрессии NS3H-CV в гепатоцитах не влияет на изменение пролиферативной активности гепатоцитов ($r=-0,19$). Изучение корреляционных связей в содержании клеток в лимфоидном инфильтрате центроlobулярных и перипортальных зон печеночной дольки позволило установить прямую корреляцию между содержанием внутрипеченочных лимфоцитов и макрофагов ($r=0,55$ при ХГВ, $r=0,72$ при ХГС) и пролиферативной активностью гепатоцитов ($r=0,67$ при ХГВ, $r=0,44$ при ХГС). Содержание внутрипеченочных макрофагов также коррелирует с выраженностью пролиферации гепатоцитов ($r=0,6$ при ХГВ, $r=0,41$ при ХГС).

Проведенный сравнительный анализ выраженности и характера клеточной инфильтрации в паренхиме печени, а также пролиферативной активности гепатоцитов при ХГС и ХГВ в зависимости от фазы вирусной активности при ХГВ и степени инфицированности гепатоцитов при ХГС, выраженности цитолитического синдрома, отражающего степень повреждения гепатоцитов, а также от морфологической активности хронического гепатита показал значительные различия направленности и выраженности изменений указанных показателей в зависимости от этиологии хронического гепатита, что, несомненно, свидетельствует о различных патогенетических механизмах его

естественного течения. Высокая вирусная активность при ХГВ, документируемая прямыми (в виде выявления ДНК HBV в ткани печени) и косвенными (в виде выявления в крови серологических маркеров активации вирусного процесса) свидетельствами сопровождается достоверным увеличением интенсивности внутридольковой лимфоцитарной инфильтрации с нарастанием доли CD8-позитивных лимфоцитов и увеличением внутридольковой макрофагальной активности. Напротив, такой эффект при ХГС наблюдается при наличии меньшей распространенности инфицирования гепатоцитов в виде низкого содержания в паренхиме печени NS3HCV-позитивных гепатоцитов. Важнейшей патогенетической особенностью ХГС является снижение относительного содержания CD4-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек, вплоть до полного их отсутствия вне зависимости от степени инфицированности гепатоцитов, уровня повреждения гепатоцитов, отражаемого уровнем цитолитического синдрома и выраженностью гистологической активности ХГ. Повреждение гепатоцитов закономерно сопровождается их регенераторной пролиферацией, наблюдаемой и у больных ХГВ, и у больных ХГС. Проллиферация гепатоцитов, определяемая по экспрессии Ki67, достоверно возрастала по мере увеличения повреждения гепатоцитов и при максимальном повреждении была более выражена у больных ХГВ.

Сопоставление уровня содержания лимфоцитов и их субпопуляций в ткани печени с выраженностью повреждения гепатоцитов (АлАт) у больных ЦП показало, что, несмотря на более высокий уровень содержания лимфоцитов в паренхиме печени при HCV-инфекции, относительное содержание CD8-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек у этих больных было достовер-

но ниже аналогичной группы больных ЦПВ, равно как и показатель выраженности цитолитического синдрома (табл. 4).

Повышенное содержание лимфоцитов в ткани печени больных ХГВ и неизмененное соотношение их основных субпопуляций согласуется с высокой степенью цитолиза (среднее содержание сывороточной АлАт $965,2 \pm 269,0$ ед/л). У больных ЦПВ более низкое, чем у больных ХГВ, содержание внутридольковых лимфоцитов, наряду с нарушенным соотношением Т-хелперов и цитотоксических лимфоцитов (соотношение CD4/CD8 в паренхиме печени у больных ХГВ составило в среднем $0,03 \pm 0,02$, у больных ЦПВ $0,64 \pm 0,46$, в интактной печени $0,03 \pm 0,01$), соответствует менее выраженному цитолизу (среднее содержание сывороточной АлАт $248,4 \pm 95,0$ ед/л). Выявленное преобладание в цирротически измененной ткани печени Т-хелперов на фоне снижения общего числа лимфоцитов указывает на возникновение выраженных сбоев в клеточном иммунном ответе больных декомпенсированным ЦП.

Вместе с тем, анализ выявленных закономерностей не может объяснить достоверно менее выраженный уровень цитолиза у больных ХГС и ЦПС при сопоставимой гистологической активности патологического процесса и высоком уровне содержания CD8-позитивных лимфоцитов при ХГС. Вероятно, в основе таких закономерностей лежат особенности функционального состояния внутридольковых лимфоцитов при хронической HCV-инфекции.

Уровень пролиферативной активности гепатоцитов при декомпенсированном ЦП, как видно из таблицы 5, несмотря на выраженное повреждение (ИГА по Knodell от 9 до 18 баллов), при ЦПВ не превышал аналогичный показатель в интакт-

Таблица 4

Сравнение уровня содержания лимфоцитов и их субпопуляций в паренхиме печени с выраженностью цитолитического синдрома (по содержанию сывороточной АлАт) у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV, при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	N С/В	Лимфоциты, печень (абс.) M±m		CD4, печень (%) M±m		CD8, печень (%) M±m		АлАт (ед./л) M±m	
		С	В	С	В	С	В	С	В
ХГ	17/11	41,18 ± 4,80 * ¹	37,71 ± 7,61 ^{2, *}	0,11 ± 0,06 #	0,95 ± 0,42 3	54,17 ± 3,82 * ⁴	49,91 ± 9,20 * ⁵	120,94 ± 29,71 # * ⁶	965,2 ± 269,0 ^{1,2, *} 7
ЦП	5/5	31,83 ± 6,54 # * ¹	12,83 ± 3,20 ²	0,87 ± 0,57 #	7,16 ± 3,27 * ³	12,86 ± 4,50 # * ⁴	31,59 ± 8,895	98,00 ± 58,51 # * ⁶	248,4 ± 95,0 * ⁷
Контроль	5	18,63 ± 0,74		0,88 ± 0,73		27,20 ± 12,20		35,0 ± 3,80	

Индексы ^{1,2} и др. указывают на достоверное различие между сравниваемыми группами;

* — на достоверное различие с контролем,

— на достоверное различие с соответствующей группой ХГВ (p<0,05).

ной печени, а при ЦПС он был достоверно ниже по сравнению с этим показателем в группе больных ЦПВ и в контрольной группе ($1,13 \pm 0,58\%$ при ЦПВ, $0,39 \pm 0,24\%$ при ЦПС $p < 0,05$ и $1,14 \pm 0,57\%$ в контрольной группе, $p < 0,05$).

Таблица 5

Пролиферативная активность гепатоцитов у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18)

Обследуемая группа	n С/В	Индекс пролиферативной активности (%)	
		HCV	HBV
ХГ	17/11	$4,09 \pm 0,43$ 1, *, #	$7,55 \pm 1,69$ 2 *
ЦП	5/5	$0,39 \pm 0,24$ 1, *, #	$1,13 \pm 0,58$ 2
Контроль	5	$1,14 \pm 0,57$	

Индексы ^{1, 2} и др. указывают на достоверные различия между сравниваемыми группами,

* — на различия с контролем,

— на различия с соответствующей группой ХГВ и ЦПВ ($p < 0,05$).

Низкая регенераторная способность паренхимы печени в условиях сохраняющегося повреждения при декомпенсированном ЦП является причиной нарастания печеночной недостаточности при прогрессирующем повреждении. Характерно, что при ХГ с такой же гистологической активностью (ИГА по Knodell от 9 до 18 баллов) пролиферативная активность гепатоцитов была значительно выше и у больных ХГВ, и у больных ХГС. На этапе ХГ и ЦП достоверно более высокая пролиферативная активность гепатоцитов была характерна при HBV-инфекции.

Естественное течение хронической HCV- и HBV-инфекции, обусловленное персистенцией гепатотропного вируса, по мнению ряда исследователей, осуществляется посредством постоянного повреждения гепатоцитов, по всей видимости, преимущественно клеточно-опосредованным путем [1, 6, 7]. Каждый из этапов естественного течения хронической HCV- и HBV-инфекции характеризуется различной морфологической картиной, определяемой различными патогенетическими механизмами, общим важнейшим из которых является клеточное иммунное воспаление с сохраняющимся клеточно-опосредованным повреждением гепатоцитов. На этапе ХГ в паренхиме печени наблюдается наибольшее содержание внутридольковых лимфоцитов, в том числе CD8-позитивных лимфоцитов, принимающих непосредственное участие в иммуноопосредованном повреждении гепатоцитов. Возрастание внутридольковой клеточной лимфоцитарной инфильтрации на этапе ХГ сопровождается повышением

показателей цитолитического синдрома, свидетельствующего о нарастании уровня повреждения гепатоцитов. Несоответствие схожих морфологических изменений, отражаемых индексом гистологической активности, различному уровню цитолитического синдрома у больных ХГВ и ХГС обусловлено, вероятно, различным функциональным состоянием внутридольковых лимфоцитов и изменением функциональной активности элементов клеточного звена иммунитета. Различный патогенез хронической HCV- и HBV-инфекции иллюстрируется различным относительным содержанием субпопуляций Т-лимфоцитов в паренхиме печени. В частности, для всех этапов хронической HCV-инфекции характерна достоверная внутридольковая CD4-клеточная лимфопения, свидетельствующая о выраженных нарушениях клеточного иммунного ответа. Постоянное повреждение гепатоцитов, лежащее в основе всех этапов хронической HCV- и HBV-инфекции, приводит к регенераторной пролиферации гепатоцитов как типовой компенсаторной реакции, обеспечивающей на этапе ХГ сохранение популяции паренхиматозных клеток и функции органа в целом, возрастая при нарастании повреждения. На этапе декомпенсированного ЦП характерна низкая пролиферативная активность гепатоцитов при сохраняющемся высоком уровне повреждения, что приводит к сокращению популяции паренхиматозных клеток и прогрессированию печеночной недостаточности. Патогенетические особенности хронической HCV- и HBV-инфекции характеризуются значительно менее выраженной пролиферативной активностью гепатоцитов при хронической HCV-инфекции при сопоставимой гистологической активности. Таким образом, в основе схожих морфологических проявлений при хронической HCV- и HBV-инфекции лежат типовые патологические процессы, являющиеся элементами различных патогенетических механизмов, обусловленных различными этиологическими факторами.

Выводы

1. Достоверные эпидемиологические и клинкоморфологические особенности хронической HBV- и HCV-инфекции наблюдаются на этапе ХГ и нивелируются на этапе декомпенсированного ЦП. Клинико-эпидемиологические особенности хронической HCV-инфекции лежат в основе ее широкой распространенности.

2. Различные патогенетические механизмы естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции с клеточноопосредованным иммунным повреждением гепатоцитов характеризуются различным уровнем содержания внутридольковых CD4- и CD8-лимфоцитов.

3. Регенераторная пролиферация гепатоцитов при постоянном повреждении в ходе естественно-го течения хронической HBV- и HCV-инфекции, обеспечивающая сохранение функции печени, наблюдается на этапе ХГ. На этапе декомпенсированного ЦП регенераторная пролиферация гепатоцитов не обеспечивает сохранение популяции гепатоцитов в условиях сохраняющегося повреждения, что влечет за собой прогрессирование печеночной недостаточности.

Литература

1. Ивашкин, В.Т. Прогресс в изучении и терапии хронических вирусных гепатитов / В.Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 1997. — № 5. — С. 22–26.
2. Комарова, Д.В. Морфологическая диагностика инфекционных заболеваний печени / Д.В. Комарова, В.А. Цинзерлинг. — СПб.: Состис, 1999. — 245 с.
3. Лобзин, Ю.В. Вирусные гепатиты / Ю.В. Лобзин [и др.] — СПб., 2006. — 183 с..
4. Серов, В.В. Морфологическая диагностика заболеваний печени. / В.В. Серов, К. Лапиш. — М.: Медицина, 1989. — 336 с.
5. Цинзерлинг, А.В. Современные инфекции. Патологическая анатомия и вопросы патогенеза / А.В. Цинзерлинг, В.А. Цинзерлинг. — 2-е изд. — СПб.: Сотис, 2002. — 352 с.
6. Шапиро, И.Я. Клинико-молекулярные взаимосвязи хронического гепатита и гепатоцеллюлярного рака, ассоциированных с вирусом гепатита В / И.Я. Шапиро [и др.] // Архив патологии. — 2005. — Т. 67, № 2. — С. 6–10.
7. Шапиро, И.Я. Гепатоцеллюлярная карцинома, ассоциированная с HBV. **Особенности эпидемиологии, клини-ки и морфологии.** Клеточно-молекулярные аспекты патогенеза и диагностики / И.Я. Шапиро, В.Е. Кареев; под. ред. А.В. Шаброва. — М.: Триада Лтд., 2007. — 167 с.
8. Шахгильдян, И.В. Эпидемиологическая характеристика хронических гепатитов В и С в Российской Федерации / И.В. Шахгильдян [и др.] // Мир вирусных гепатитов. — 2008. — № 5. — С. 11–16.
9. Denk, H. What expected from the pathologist in the diagnosis of viral hepatitis? / H. Denk // Virchows Arh. — 2011. — V. 458, № 4. — P. 377–392.
10. Fattovich, G. Effect of hepatitis B and C virus infections on the natural history of compensated cirrhosis: a cohort study of 297 patients / G. Fattovich [et al.] // Am. J. Gastroenterol. — 2002. — № 97. — P. 2886–2895.
11. Knodell, R.G. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic active hepatitis / R.G. Knodell [et al.] // Hepatology. — 1981. — V. 1, № 5. — P. 431–435.

Авторский коллектив:

Карев Вагим Евгеньевич — заведующий лабораторией патоморфологии клиники Научно-исследовательского института детских инфекций ФМБА России, к.м.н.; тел.: 8-921-954-04-66, e-mail: vadimkarev@yandex.ru

Лобзин Юрий Владимирович — директор Научно-исследовательского института детских инфекций ФМБА России, д.м.н., профессор, академик РАМН; тел.: 8(812)223-41-86, e-mail: niidi@niidi.ru

Цинзерлинг Всеволод Александрович — заведующий лабораторией патоморфологии Научно-исследовательского института фтизиопульмонологии, профессор кафедры патологии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, д.м.н., проф.; тел.: 8-921-320-34-42, e-mail zinserling@yandex.ru

КЛИНИКО–ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПНЕВМОКОККОВЫХ МЕНИНГИТОВ У ДЕТЕЙ

Т.А. Даминов, Л.Н. Туйчиев, Н.У. Таджиева, Б.А. Кадыров, Д.Ф. Раимкулова,
З.П. Улимбекова

Ташкентская медицинская академия, Ташкент, Узбекистан

Clinical and epidemiological characteristics of pneumococcal meningitis in children

T.A. Daminov, L.N. Tuychiev, N.U. Tadjiev, B.A. Kadyrov, D.F. Raimkulova, Z.P. Ulimbekova
Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan

Резюме. Дана клинико-эпидемиологическая характеристика 108 больным с пневмококковым гнойным менингитом в возрасте от 6 месяцев до 14 лет. Анализ данных показал, что пневмококковый менингит характеризуется крайне тяжелым течением сотягощающими последствиями и исходами. В последние годы отмечается повышение роли *S. pneumoniae* в этиологической структуре острых гнойных менингитов у детей. Использование современных тест-систем (иммунохроматографический тест *BinaxNOW S.pneumoniae тест*), наряду с бактериологическим методом, существенно улучшает этиологическую расшифровку гнойных менингитов у детей.

Ключевые слова: гнойные менингиты у детей, пневмококковая инфекция, латекс-агглютинация, иммунохроматографический тест.

Введение

Пневмококковые менингиты (ПМ) представляют собой тяжелую, угрожающую жизни инфекцию, отдаленными последствиями которой являются поражение головного мозга и глухота. В Республике Узбекистан исследования, посвященные изучению острых бактериальных гнойных менингитов (ОБГМ), показали, что ПМ по частоте встречаемости занимают второе место после менингококковых [1, 2]. Частота летальных исходов и осложнений ПМ, приводящих к инвалидизации, значительно превышает аналогичные показатели по менингитам другой этиологии [3]. Так, по данным Р.И. Касимовой [1], тяжелое течение ПМ в 43,2% сопровождалось вовлечением в патологический процесс вещества головного мозга, тогда как при менингококковом менингите это составило 28,6%, при менингите, обусловленном гемофильной палочкой типа b, — 30%. Такие исходы при пневмококковых менингитах объясняются свойствами возбудителя и патогенезом заболевания [3, 5, 6].

Трудности идентификации *S. pneumoniae* в спинномозговой жидкости (СМЖ) бактериологическим методом связаны с особенностями возбудителя и положительный результат достигается лишь в 10–30% случаях [3, 6, 7]. Микроскопический метод при окраске по Граму мазков СМЖ является самым доступным, но не может удовлетворить современные требования в связи с небольшой чувствитель-

Abstract. Authors present clinical and epidemiological characterization of the 108 patients with pneumococcal meningitis of the age from 6 months to 14 years old. The data analysis showed that pneumococcal meningitis is characterized with severity and complications. It was also observed that the role of *S. pneumoniae* in etiology of the acute bacterial meningitis has increased for the children in the last years. The use of rapid immunochromatographic test along with cultural methods increases the detection of the etiology of bacterial meningitis in children.

Key words: purulent meningitis in children, pneumococcal infections, latex agglutination test, immunochromatographic test.

ностью и специфичностью, не позволяющими достоверно идентифицировать грам-вариабельные и плеоморфные бактерии [5]. Данный метод рекомендуется использовать в качестве экспресс-метода, наряду с другими методами при этиологической диагностике менингитов. Бактериологический метод остается «золотым стандартом» диагностики бактериальной инфекции и позволяет идентифицировать возбудителей менингита при условии присутствия живых бактерий и правильной доставки проб ликвора в лабораторию, но не всегда возможен вследствие применения антибиотиков на догоспитальном этапе [3–5]. Несмотря на низкую информативность, бактериологический метод до сих пор не потерял своей значимости и является одним из самых трудоемких методов подтверждения природы бактериальных заболеваний. В последние годы для идентификации *S. pneumoniae* широкое распространение получают более чувствительные лабораторные методы, такие как реакция латекс-агглютинации (РЛА), полимеразно-цепная реакция (ПЦР), иммунохроматографический тест (*Binax Now-Streptococcus pneumoniae test*). Самой высокой специфичностью и чувствительностью характеризуются молекулярно-генетические методы, в частности, ПЦР. Преимуществом указанных методов идентификации перед бактериологическим является быстрота получения результата (в течение

нескольких минут и часов), высокая специфичность и чувствительность [3, 4].

Несмотря на имеющиеся данные о свойствах пневмококка, диагностике и патогенезе ПМ, клинико-эпидемиологические особенности различных форм ПМ у детей в Центрально-Азиатском регионе изучены недостаточно.

Цель исследования – дать клинико-эпидемиологическую характеристику гнойных менингитов пневмококковой этиологии у детей.

Материалы и методы

С января 2008 г. по декабрь 2012 г. обследовано 210 детей с гнойным менингитом в возрасте от 6 мес. до 14 лет, госпитализированных в Городскую клиническую инфекционную больницу № 1 г. Ташкента. Для идентификации *S. pneumoniae* из ликвора использовали микроскопический метод, бактериологический посев ликвора на специальные среды, РЛА (Pastorex meningitis, Bio-Rad, Франция) и иммунохроматографический тест (BinaxNOW – Streptococcus pneumoniae Test, США).

Образцы ликвора брали двукратно: в первые часы поступления больного в стационар, затем на 10–11-й дни после первичного забора. Микроскопию ликвора проводили путем окраски метиленовым синим и по Граму. Бактериологический посев ликвора проводили площадкой на чашки Петри с 5% кровяным колумбийским агаром и шоколадным агаром. Идентификацию микробов проводили на основании морфологии колоний, результатов окраски по Граму, чувствительности к оптохину и пробирочного теста лизиса в присутствии 10% дезоксихолата натрия (Микробиологическая диагностика менингококковой инфекции и других бактериальных менингитов. Методические указания № 012-3/0069, 2006). Определение чувствительности выделенных возбудителей методом микроразведений в бульоне Мюллера – Хинтона проводилось к следующим препаратам: пенициллину, амоксициллину, ампициллину, амоксициллину/клавуланату, цефотаксиму, цефтриаксону, цефоперазону, цефазолину, азитромицину, кларитромицину, ванкомицину, эритромицину, сульфаметаксозолу, ципрофлоксацину.

РЛА применяли с целью идентификации растворимого антигена *S. pneumoniae* (чувствительность 90–100%, специфичность 100%). Антиген, содержащийся в исследуемом образце ликвора, идентифицировался с использованием латексных частиц, которые покрыты специфичными гомологичными антителами. В присутствии гомологичного антигена латексные частицы агглютинируют, в отсутствие антигена они остаются в виде гомогенной суспензии.

С помощью иммунохроматографического теста BinaxNOW определяли растворимый антиген *S. pneumoniae* в ликворе (чувствительность теста

70–90% и специфичность 80–100%) (Dowell S.F. et al., 2001, Ishida T. et al., 2004). BinaxNOW, в отличие от конкурентных тестов, где обнаруживают капсульный антиген, определяет полисахарид С на стенке клетки-антигена 4 наиболее распространенных серогрупп (6, 14, 19 и 23) [7]. Содержащийся в исследуемом образце антиген *S. pneumoniae* связывается с находящимися на подложке антителами окрашенного конъюгата, и окрашенный комплекс антиген-конъюгат связывается за счет наличия антигена с иммобилизованными на мембране кроличьими антителами к антигену *S. pneumoniae*, формируя окрашенную линию. Иммобилизованные на полоске козы антигены против IgG кролика также связывают окрашенный конъюгат, формируя контрольную линию. Окрашивание развивается в течение 15 мин.

Результаты и обсуждение

Анализ этиологической диагностики гнойных бактериальных менингитов у детей показал, что положительные результаты зависели от методов, применяемых для исследования СМЖ, качества питательных сред, получения антибактериальной терапии на догоспитальном этапе и организации доставки материалов от больных. Так, бактериологическим методом *S. pneumoniae* идентифицирован у 98 (46,6%) из 210 (100%) больных с гнойным менингитом. В РЛА результат был положительным у 102 (85,7%) из 119 (100%) больных, иммунохроматографический тест был положительным у 20 (90,9%) из 22 (100%) детей с гнойным менингитом. Из 210 госпитализированных детей с гнойным менингитом пневмококковая этиология лабораторно подтверждена у 108 (51,4%) больных. РЛА и иммунохроматографический тест были использованы в 2011–2012 гг., что повысило этиологическую расшифровку гнойных менингитов в эти годы. Особый рост заболеваемости пневмококковым менингитом по сравнению с менингококковым отмечался в 2012 г. Так, если пневмококк был идентифицирован у 32 больных, то *N. meningitidis* выделен лишь в одном случае, и не было ни одного случая гнойного менингита, вызванного *Hib*-инфекцией. Снижение заболеваемости детей с гнойными менингитами менингококковой и гемофильной этиологии в последние годы мы связываем с введением в плановую вакцинацию республики иммунизации детей против *Hib*-инфекции, вакцинацией контактных по менингококковой инфекции лиц и плановой иммунизацией военного контингента республики.

Повозрастной анализ больных показал, что дети в возрасте от 6 мес. до 1 года составили 1,8%, от 1 года до 5 лет – 29,7%, от 5 до 14 лет – 68,5%, что является, вероятно, отражением возрастной структуры детей, лечившихся в данном стационаре. У 57,2% больных выявлены заболевания, ставшие первичным очагом пневмококковой инфекции. Так, пневмония отмеча-

лась у 35,1%, сепсис — у 1,8%, средний отит — у 12,0%, синусит — у 8,3% пациентов. Доля пациентов, имеющих неблагоприятный анамнез (черепно-мозговые травмы, многочисленные респираторные заболевания, перенесенный ранее менингит) составила 24,3%. Подавляющее большинство (83,6%) больных поступало на 2-е сутки от начала болезни в отделение реанимации и интенсивной терапии, где лечение продолжалось в среднем $5,2 \pm 1,76$ дней. Сроки госпитализации больных зависели от клинической формы предшествующей очаговой пневмококковой инфекции. Так, острое, бурное начало болезни отмечалось у больных с первичным ПМ и оториногенным менингитом.

Клиника ПМ характеризовалась тяжелым течением: у 83,3% детей ПМ протекал в тяжелой и у 16,7% детей — в крайне тяжелой форме. В 76,3% случаях ПМ начинался остро, с повышения температуры тела, сильных головных болей, рвоты и резкой слабости на фоне ОРВИ (83,2%). Как показано на рисунке, тяжесть была обусловлена выраженным синдромом интоксикации (гипертермия — 98,7%, многократная рвота — 66,2%, сыпь — 2,7%), неврологической симптоматикой (менингеальные симптомы — 100%, патологические рефлексы — 29,6%, очаговая неврологическая симптоматика — 18,6%, судорожный синдром — 37%). Осложнения, которые наблюдались у больных, были представлены в большинстве случаев (72,2%) отеком головного мозга и инфекционно-токсическим шоком. Менингоэнцефалит выявлен у 29,6% больных и преобладал у детей в возрасте до 5 лет. Заболевание отличалось значительной тяжестью — выраженным менингеальным синдромом, стволовой и очаговой симптоматикой, поражением II, VI, VII, XII пар черепно-мозговых нервов, судорожным синдромом. Вторичный менингит/менингоэнцефалит отличался от первичного более тяжелым течением с развитием таких осложнений, как отек головного мозга II—III степени, инфекционно-токсический шок I—II степени, парезы, миокардиты, бурситы.

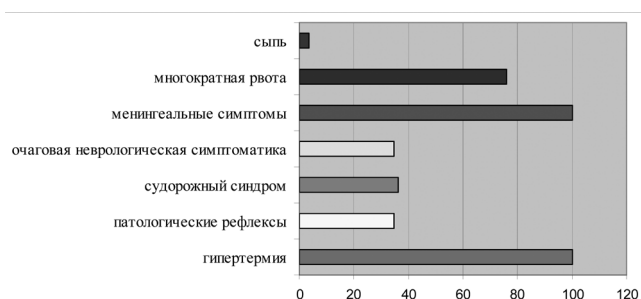


Рис. Клинические проявления пневмококкового менингита в разгар болезни (n = 108)

Известно, что важным фактором развития ПМ является присутствие в анамнезе черепно-мозговых травм, операционных вмешательств,

наличие ликвореи. Из числа наблюдаемых нами больных лишь у одного больного (0,9%) отмечался рецидивирующий ПМ, который был связан с посттравматической ликвореей. В анамнезе данного больного в течение 5 лет ежегодно, порой дважды в год, отмечались случаи гнойных менингитов, пневмококковой этиологии, обусловленные проникновением возбудителя из верхних дыхательных путей в субарахноидальное пространство.

Изменения в гемограмме, особенно показатели лейкоцитарной формулы, имели прямую зависимость от тяжести болезни и наличия осложнений. Так, уровень лейкоцитов в 91,5% случаев колебался от $14,5$ до $40 \times 10^9/\text{л}$. СОЭ у 53,2% больных повышалось до 25–30 мм/ч, в основном, у детей в возрасте старше 5 лет.

Анализ показателей ликвора показал, что при первичной спинномозговой пункции ликвор вытекал быстрыми каплями, был мутным, имел зеленовато-желтую окраску. Плеоцитоз достигал 5000 и выше в 1 мкл, в 90–100% носил нейтрофильный характер. Показатели уровня белка достигали в среднем $1,49 \pm 0,34$ г/л. При бактериоскопическом исследовании ликвора определялись попарно расположенные диплококки в виде ланцетов. Показатели ликвора при вторичной спинномозговой пункции (через 10–11 дней после первичной пункции) у 93,5% больных указывали на значительную положительную динамику: ликвор был прозрачным, безцветным, цитоз снижался до 20–40 клеток в 1 мкл, в 100% случаев носил лимфоцитарный характер.

Результаты бакпосева мазка из носоглотки 108 больных показали: *S. pneumoniae* выделен в 38,8% случаев, *Staph. aureus* — в 22,8%, *S. pyogenes* — в 2,7% случаев, в 36,3% случаев микрофлора не обнаружена.

Анализ чувствительности выделенных пневмококков из носоглотки и ликвора детей с ПМ к антибиотикам показал, что в 100% случаев высокая чувствительность сохранена к цефотаксиму, клорамфениколу, ванкомицину, цефтриаксону, эритромицину. В 41,6% случаев выявлена умеренная чувствительность к ципрофлоксацину, рифампицину, амоксицилину/клавуланату, цефалеперазону и низкая чувствительность к ампициллину, амоксициллину, пенициллину, азитромицину, сульфаметаксозолу в 38,3% случаев.

В комплексной терапии ПМ важнейшее значение имеет антибактериальная терапия. Препаратами выбора были пенициллин, цефотаксим, цефтриаксон, препаратами резерва — ванкомицин, рифампицин, клорамфеникол. Ограничиться одним курсом монотерапии удалось в 11,7% случаев, двумя — в 70,5% случаев, в остальных 17,8% случаев больным проведен повторный курс со сменой антибиотиков.

Как показано в таблице, исходы ПМ зависели от возраста больных. Так, 76,0% больных были выписаны с выздоровлением, гипертензионно-гидроцефальный синдром отмечался в основном у детей в возрасте до 5 лет (2,7%), лобно-мозжечковая атаксия — у 1,8%, астеноневрологический синдром — у 13,1%, симптоматическая эпилепсия — у 1,8%, нейросенсорная тугоухость — у 3,8%, летальный исход наблюдался в 0,8% случаев и был обусловлен гнойным менингоэнцефалитом, осложненным мозговой комой, пневмонией, сепсисом.

Таблица

Исходы пневмококкового менингита у детей в зависимости от возраста

Исходы	Всего (n = 108)		Возраст больных					
			6 мес. — 1 год (n = 2)		1 — 5 лет (n = 32)		5 — 14 лет (n = 74)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Выздоровление	82	76,0	1		24	75,1	57	77,1
Гипертензионно-гидроцефальный синдром	3	2,7	1		2	6,2	—	—
Лобно-мозжечковая атаксия	2	1,8	—	—	—	—	2	2,7
Астеноневрологический синдром	14	13,1	—	—	2	6,2	12	16,2
Симптоматическая эпилепсия	2	1,8	—	—	—	—	2	2,7
Нейросенсорная тугоухость	4	3,8	—	—	3	9,3	1	1,3
Летальный исход	1	0,8	—	—	1	3,2	—	—

Таким образом, проведенные исследования указывают, что ПМ на современном этапе остаются наиболее тяжелыми формами ОБГМ. Несмотря на своевременно начатую интенсивную терапию, значительные успехи в совершенствовании этиотропной и патогенетической терапии, отмечался летальный исход, более чем у 20% больных наблюдались остаточные нарушения в психоневрологическом статусе.

Выводы

1. Клиническая картина пневмококкового менингита у детей характеризуется крайне тяжелым течением с отеком головного мозга, инфекционно-токсическим шоком и остается одной из основных инфекционных патологий детского возраста с тяжелыми последствиями и частыми неблагоприятными исходами.

2. Внедрение в клиническую практику современных тест-систем (иммунохроматографический тест — **BinaxNOW S. pneumoniae тест**), наряду с бактериологическим методом, снижает количество этиологически неидентифицированных менингитов и выявляет существенное повышение доли *S. pneumoniae* в этиологической структуре острых гнойных менингитов у детей.

3. Снизить риск возникновения заболевания, частоту развития остаточных явлений и летальность от пневмококкового менингита возможно только с помощью профилактических мер, включающих специфическую вакцинацию детей против пневмококковой инфекции.

Литература

1. Касимова, Р.И. Течение пневмококковых менингитов у детей / Р.И. Касимова // Бюллетень ассоциации врачей Узбекистана. — Ташкент, 2008. — № 1. — С. 22 — 23.
2. Шадманова, Н.А. Возбудители бактериальных менингитов, их носоглоточное носительство, биологические свойства и антибиотикорезистентность : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.А. Шадманова. — Ташкент, 2007. — 21 с.
3. Макинтош, Э.Д. Стратегия лечения и профилактики пневмококкового менингита у детей / Э.Д. Макинтош, О.В. Шамшева, А.Ю. Ртищев // Детские инфекции. — 2008. — № 4. — С. 21 — 28.
4. Козлов, Р.С. Антибиотикорезистентность *Streptococcus pneumoniae* в России в 1999 — 2005 гг.: результаты многоцентровых проспективных исследований ПеГАС — I и ПеГАС — II / Р.С. Козлов. — КМАХ. — 2006. — Т. 8, № 1. — С. 24 — 29.
5. Харит, С.М. Пневмококковая инфекция и ее профилактика: пособие для практических врачей / С.М. Харит. — СПб.: НИИДИ, 2009. — 48 с.
6. Baraff, L.J. Outcomes of bacterial meningitis in children a meta-analysis / L.J. Baraff, S.I. Lee, D.L. Schriger // Pediatr. Infect. Dis. J. — 1998. — № 12. — P. 389 — 394.
7. Cetron, N. Chapter 9: Pneumococcal Disease. Meningitis Foundation of America / N. Cetron [et al.]. — www.musa.org/pneumococc.htm

Авторский коллектив:

Даминов Тургунпулат Абидович — заведующий кафедрой инфекционных болезней и педиатрии Ташкентской медицинской академии, д.м.н., профессор, академик АН РУз; тел.: (99871)232-19-46; e-mail: dr.daminov@mail.ru

Туйчиев Лазиз Нодирович — профессор кафедры инфекционных болезней и педиатрии Ташкентской медицинской академии, директор УзНИИЭМИЗ МЗ РУз, д.м.н.; тел.: (99871)2433605; e-mail: l.tuychiev@mail.ru

Тажиева Нигора Убайдуллаевна — доцент кафедры инфекционных болезней и педиатрии Ташкентской медицинской академии, к.м.н.; тел. +998911654943, e-mail: nigora1973@list.ru

Кадыров Бахтияр Асадуллаевич — главный врач ГКИБ № 1 г.Ташкента, д.м.н., профессор; тел.: (99871)240-32-66

Раимкулова Дилноза Фархатдиновна — стажер-соискатель кафедры инфекционных болезней и педиатрии Ташкентской медицинской академии; тел.: (99893)1861869; e-mail: dr.dilnosa@mail.ru

Улимбекова Зухра Пулатовна — заведующая бак. лабораторией ГКИБ № 1; тел.: (99894)6284894

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ МЕНИНГОЭНЦЕФАЛИТА У РЕБЕНКА СО СМЕШАННОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

Н.В. Скрипченко, Е.М. Мазаева, М.К. Бехтерева, М.В. Иванова

Научно-исследовательский институт детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург

Features of a current meningoencephalitis at child with the mixed bacterial infection (clinical cases)

N.V. Skripchenko, E.M. Mazaeva, M.K. Bekhtereva, M.V. Ivanova

Science Research Institute of Children Infections of FMBA of Russia, Saint-Petersburg

Резюме. В последние десятилетия увеличился удельный вес смешанных (микст-) инфекций. Клинические проявления микст-инфекций, как правило, нетипичны, а течение заболевания зависит от вида возбудителей-ассоциантов, их биологических свойств, взаимоотношений друг с другом и с организмом хозяина. Представлен клинический случай, свидетельствующий о возможных микст-ассоциациях персинуозной и листериозной инфекций, вызвавших менингоэнцефалит. Описан опыт авторов по нейроинфекционным заболеваниям, согласно которому для уточнения этиологии необходимо параллельное исследование крови и цереброспинальной жидкости как молекулярно-генетическими, серологическими, так и иммуногистохимическими методами диагностики для обнаружения микст-инфекции или сопутствующей инфекции.

Ключевые слова: смешанные инфекции, менингоэнцефалит, листериозная инфекция, персинуозная инфекция.

Abstract. In the past decade the proportion of mixed infections has increased. The clinical aspects of mixed infections can be atypical, and the course of the disease depends on the type of pathogen-associants, their biological properties, relationships with each other and with the host.

A clinical case, showing the possibility of mixed associations of *Yersinia* and *Listeria* infections, caused the meningoencephalitis, is given. It is described the experience of the authors on neuroinfection diseases, according to which, a parallel study of blood and cerebrospinal fluid in molecular-genetic, serological as well as immunohistochemical diagnostic methods is required for the detection of mixed infection or co-infection in order to clarify the etiology of the disease.

Key word: mixed-infection, meningoencephalitis, listeriosis infection, yersinioz infection.

Введение

Структура инфекционной патологии в последние десятилетия претерпела существенные изменения, в первую очередь увеличился удельный вес смешанных (микст) инфекций, что привлекает внимание исследователей [1, 2].

Смешанные инфекции могут быть результатом таких ассоциаций, как бактерии-бактерии, бактерии-вирусы, вирусы-вирусы, паразитарно-паразитарные, паразитарно-бактериальные, паразитарно-вирусные [3]. Механизм взаимоотношений возбудителей смешанных инфекций практически не изучен. Клинические проявления могут быть нетипичны, а течение заболевания зависит от вида возбудителей-ассоциантов, их биологических свойств, взаимоотношений друг с другом и с организмом хозяина [4–6]. Обе инфекции могут иметь отклонения от классического течения моноинфекций.

Смешанные инфекции, в сравнении с моноинфекциями, представляют большую опасность, так как имеет место наложение и особая реакция

отдельных звеньев патогенеза, а при вирусно-бактериальных ассоциациях для иммунной системы создается парадоксальная ситуация включения двух оппозиционных форм иммунного ответа [7].

Микробные взаимоотношения при смешанных инфекциях могут влиять на инфекционный процесс различно, в одних случаях активизируя или отягчая течение болезни (синергизм), в другом случае — подавляя и уменьшая степень выраженности (антагонизм). Также существует вариант, когда микроорганизмы существенно не влияют на активность друг друга, например, одна инфекция затрудняет развитие и прогрессирование второй в результате стимуляции защитных механизмов. Так, одновременное инфицирование двумя вирусами может приводить к частичному угнетению их репродукции, например, одновременное заражение гриппом и парагриппом, гриппом и аденовирусной инфекцией приводит к развитию легких форм заболевания [8]. Менингококки и носоглоточная микрофлора конкурируют между собой, так же, как возбудители ди-

зентерии и некоторые виды кишечных палочек, продуцирующие колицин. Однако активизация патологического процесса — наиболее частый вариант течения смешанных инфекций (брюшной тиф и паратифы, туберкулёз и стрептококковая или пневмококковая инфекция, корь и дифтерия, грипп и менингококковая инфекция, аденовирусная и стафилококковая инфекции) [9]. Патогенный эффект возбудителей не имеет простого суммарного характера, речь идет о динамически изменяющейся их ассоциации, компоненты которой конкурируют за источники питания и наиболее благоприятные условия для роста собственной популяции, но наиболее частым вариантом смешанной бактериальной инфекции является утяжеление инфекционного процесса [10].

Общие закономерности микст-инфекций характерны и для инфекционной патологии центральной нервной системы. По данным зарубежной и отечественной литературы, частота смешанных бактериальных менингитов составляет 10–15% [11, 12], а по данным клиники нейроинфекций НИИ детских инфекций, в 2009–2011 гг. их частота составила 3%.

Среди инфекций, протекающих с поражением ЦНС, листериозная инфекция в детском возрасте, за исключением периода новорожденности, изучена недостаточно. В зарубежной и отечественной литературе описываются случаи листериозного менингита у детей с иммунодефицитными состояниями [13–17]. Оппортунистические свойства *Listeria monocytogenes* обусловлены слабовыраженной патогенностью. Известно, что при листериозной инфекции поражение нервной системы может протекать в виде менингита, энцефалита, менингоэнцефалита, миелита, полинейропатии. Частота листериозных менингитов составляет от 1–5% до 6–13% в структуре бактериальных менингитов в зависимости от возраста пациентов [18, 19]. Нервная форма листериоза встречается чаще всего у детей первого года жизни и у взрослых старше 45–50 лет, лиц с иммунодефицитными состояниями. Обычно развивается менингит или менингоэнцефалит, наиболее частыми симптомами являются фебрильная лихорадка, нарушение сознания и нарастающая по интенсивности головная боль. При этой форме, наряду с симптомами общей интоксикации, выражена общемозговая симптоматика, отмечаются положительные менингеальные симптомы (ригидность мышц затылка, симптомы Кернига, Брудзинского), выявляются повышенные рефлексы, парестезии и гиперестезии, могут развиваться клонические судороги, бред, нарушение сознания. В некоторых случаях преобладает симптоматика очаговых поражений черепно-мозговых нервов: птоз, анизокория, страбизм, патологические рефлексы, иногда параличи

и психические расстройства. При спинномозговой пункции ликвор может быть прозрачным или мутным, вытекает под повышенным давлением; отмечается увеличение концентрации белка, цитоз смешанного (нейтрофильно-лимфоцитарного) характера. Улучшение состояния больных, санация ликвора происходят медленно, положительная динамика отмечается через 2–4 недели от начала этиотропной терапии, может отмечаться волнообразное течение болезни с развитием осложнений, таких как гидроцефалия, ромбэнцефалит, энцефалополиневрит, деменция. При листериозе нервной системы прогноз для жизни и здоровья серьезный. Как правило, она протекает в виде смешанной инфекции, что утяжеляет течение заболевания и требует массивной антибактериальной терапии. Летальность при листериозном менингите, по зарубежным данным, составляет 15–26% [19].

В последние годы актуальную проблему составляет иерсиниозная инфекция, заболеваемость которой непрерывно возрастает [20]. Данные по иерсиниозным менингитам также немногочисленны, и поражение ЦНС при иерсиниозной инфекции чаще описывается только в виде серозных менингитов [18]. Полиморфизм клинических проявлений, отсутствие патогномоничных клинических проявлений, их системность, редкость моносиндромных вариантов течения определяют сложность диагностики иерсиниозной инфекции.

Следует отметить, что иерсиниозные менингиты, развивающиеся при тяжелом течении смешанных или генерализованных форм заболевания, имеют, как правило, доброкачественное течение. При псевдотуберкулезе воспаление мягкой мозговой оболочки развивается на пике интоксикационного синдрома. Чаще болеют дети дошкольного, школьного возраста. Заболевание имеет острое начало с повышения температуры тела до 38–39°C, резко выраженных симптомов интоксикации. Отмечается полиморфизм клинической картины: сильная головная боль, иногда боли в животе и суставах; появляется повторная рвота, не связанная с приемом пищи. Со 2–3-го дня от начала заболевания выявляются менингеальные симптомы, характерна их диссоциация (чаще выражены ригидность затылочных мышц и симптом Кернига, реже — симптомы Брудзинского). В тяжелых случаях поражение мозговых оболочек сопровождается энцефалической реакцией в виде нарушения сознания (возбуждение, оглушенность, сопор) или кратковременных судорожных приступов клонико-тонического характера. При осмотре выявляют фаринготонзиллит, полиаденопатию, гепатомегалию; возможна полиморфная сыпь. Прогноз для жизни и здоровья обычно благоприятный. В редких случаях возможны остаточные явления в виде гипертензионно-гидроцефального,

астеновегетативного синдромов. При люмбальной пункции цереброспинальная жидкость прозрачная, вытекает струей или частыми каплями, характерен смешанный плеоцитоз (до 300 – 500 клеток в 1 мкл), содержание белка не изменено или умеренно повышено (до 0,5 г/л) [18, 21]. В ряде случаев возможно сочетание листериозной и иерсиниозной инфекции.

Клинический случай

Представляем случай менингоэнцефалита листериозно-иерсиниозной этиологии. Больной Н., 16 лет (дата рождения 12.03.1996), находился на стационарном лечении в НИИ детских инфекций с 28.05.2012 г. по 26.06.2012 г. с диагнозом «Генерализованная бактериальная инфекция, смешанной листериозно-псевдотуберкулезной этиологии. Менингоэнцефалит».

Анамнез болезни. Ребенок поступил в НИИДИ переводом из детской городской больницы (ДГБ) № 22, где находился в отделении реанимации с 25.05.2012 г. по 28.05.2012 г. с диагнозом «Серозный менингит неуточненной этиологии». Заболевание началось остро 24.05.2012 г., когда появилась сильная головная боль, тошнота, повышение артериального давления (АД) до 168/80 мм рт. ст. Вызвана скорая медицинская помощь, назначено 10 мг метопролола. АД постепенно снизилось, но головная боль сохранялась. К вечеру отмечался подъем температуры до 38,5°C, трижды обильная рвота, приносящая кратковременное облегчение. 25.05.2012 г. лихорадил до 39,4°C, сохранялась сильная головная боль, тошнота, повторная рвота, появилась вялость. Осмотрен педиатром, диагностирована «Острая респираторная вирусная инфекция (ОРВИ), вегето-сосудистая дистония (ВСД) по гипертоническому типу». Подросток был госпитализирован в ДГБ № 22 города Санкт-Петербурга 25.05.2012 г.

Анамнез жизни. Мальчик от 2-й беременности, протекавшей на фоне угрозы прерывания. Роды вторые путем кесарева сечения, срочные. Родился с массой 3350 г, длиной 50 см. Выписан из родильного дома на 7-е сутки. Грудное вскармливание до 4 мес. Привит по возрасту. Перенесенные заболевания: псевдотуберкулез в 1,5 года, ветряная оспа в 7 лет. Респираторными инфекциями болел нечасто. Находился на диспансерном учете у окулиста в связи с астигматизмом. С 2001 г. наблюдался фтизиатром в связи с выражением туберкулиновой чувствительности, специфическое лечение не назначалось. Лекарственной аллергии не было.

При поступлении в отделение реанимации: состояние тяжелое, выражены общемозговые, интоксикационные и менингеальные симптомы. 26.05.2012 г. симптомы сохранялись, отмечался однократный жидкий стул. По лабораторным данным: в клиническом анализе крови умеренный

лейкоцитоз ($13,6 \times 10^9/\text{л}$), относительное количество нейтрофилов до 68%. Заподозрена острая нейтроинфекция, с диагностической целью была проведена люмбальная пункция. В ликворе выявлен плеоцитоз нейтрофильного характера 1080 клеток в 1 мкл (нейтрофилов – 74%), 400 неизмененных эритроцитов за счет примеси путевой крови; уровень белка в цереброспинальной жидкости повышен до 1,06 г/л, хлор – 107,2 ммоль/л, сахар 0,3 ммоль/л. На основании клинико-лабораторных данных был выставлен диагноз «Серозный менингит, предположительно герпетической этиологии». Проводилась инфузионная, антибактериальная (цефтриаксон 2,0 г 2 раза в сутки), противовирусная (ацикловир 700 мг 3 раза в сутки внутривенно), иммуномодулирующая (рекомбинантный интерферон α -2 (виферон) 2 раза в сутки 1 500 000 МЕ), противовоспалительная (кетопрофен) терапия. На фоне назначенного лечения имело место ухудшение состояния, сохранялись симптомы интоксикации, общемозговая симптоматика, появились очаговые симптомы в виде девиации языка влево, сглаженности правой носогубной складки. 27.05.2012 г. состояние пациента продолжало ухудшаться, что проявлялось в нарушении сознания в виде оглушенности. В связи с отсутствием эффекта от проводимой терапии пациент для дальнейшего обследования и лечения с диагнозом: «Серозный менингит, неуточненной этиологии» был переведен в клинику НИИ детских инфекций.

При поступлении в клинику НИИ детских инфекций: состояние тяжелое, обусловлено эндогенной интоксикацией и неврологической симптоматикой. Ребенок в сознании, вялый, адинамичный. Жалобы на головную боль и боли в шее. Кожные покровы бледные, без инфекционной сыпи. Зев розовый. Периферические лимфатические узлы не увеличены. Кашель с отхождением слизистогнойной мокроты. Частота дыхания 20 в 1 минуту. В легких дыхание жесткое, проводится во все отделы, с двух сторон выслушиваются рассеянные сухие разнокалиберные хрипы. Тоны сердца ритмичные, приглушены, систолический шум на верхушке, частота сердечных сокращений 96 в 1 минуту. Артериальное давление 120/70 мм рт. ст. Живот мягкий, не вздут, печень, селезенка не увеличены. Мочился регулярно. Стул оформленный.

В неврологическом статусе: сознание ясное. Черепно-мозговая иннервация: зрачки $D=S$, движения глазных яблок в полном объеме. Горизонтальный нистагм, усиливающийся при нагрузке. Девиация языка влево. Рефлексы $D=S$, оживлены, зоны расширены. Объем активных движений сохранен. Мышечная сила сохранена, походка не нарушена. Брюшные рефлексы $D=S$. Менингеальные симптомы резко выражены: ригидность затылочных мышц, симптом Кернига 140° .

На момент госпитализации ребенок оставался диагностически неясным, проводился дифференциальный диагноз между серозным менингитом (туберкулезным, энтеровирусным, паротитным, иерсиниозным менингитами, вызванный вирусом клещевого энцефалита) и субарахноидальным кровоизлиянием. До результатов обследования была продолжена инфузионная терапия, дегидратация, антибактериальная терапия цефтриаксоном по 2,0 г 2 раза в день. Выполнена компьютерная томография (КТ) головного мозга, данных за субарахноидальное кровоизлияние не получено.

29.05.2012 г. из ДГБ № 22 получены данные о высеве *Yersinia pseudotuberculosis* из ликвора с высокой чувствительностью к фторхинолонам. В связи с этим пациент расценен как больной с генерализованной формой псевдотуберкулеза с поражением ЦНС и проведена смена антибактериальной терапии в соответствии с антибиотикочувствительностью на ципрофлоксацин внутривенно по 500 мг 2 раза в сутки.

В связи с сохраняющейся общемозговой и очаговой симптоматикой 30.05.2012 г. с диагностической целью была проведена повторная люмбальная пункция, которая выявила нарастание плеоцитоза до 12 909 клеток в 1 мкл (79% нейтрофилов) и белка до 3,0 г/л. Ликвор был исследован на бактериальные агенты (в реакции латекс-агглютинации (РЛА), в полимеразно-цепной реакции (ПЦР), микробиологически) *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* тип B, *Streptococcus pneumoniae* не обнаружены. Также проведено обследование ликвора на вирус клещевого энцефалита, боррелии, энтеровирусы, вирус паротита, герпес-вирусы — отрицательно. В клиническом анализе крови сохранялся лейкоцитоз с абсолютным нейтрофилезом и сдвигом лейкоцитарной формулы влево. Биохимическое исследование крови патологических изменений не выявило. Кровь на прокальцитонин — результат отрицательный. При электрокардиографическом исследовании отмечена синусовая брадикардия с ЧСС 56–57 ударов в 1 минуту. Эхокардиографическое исследование выявило признаки инфекционной кардиомиопатии: сократительная способность миокарда на нижней границе нормы, размеры полостей не изменены, реактивное расхождение листков перикарда до 2–4 мм.

Учитывая анамнез жизни (вираж туберкулиновой чувствительности) и негладкое течение заболевания, нельзя было исключить туберкулезную этиологию заболевания, в связи с чем 30.05.2012 г. была проведена консультация фтизиатра. По рекомендации специалиста в терапию были добавлены парентерально рифампицин 300 мг 2 раза в сутки и амикацин по 500 мг 2 раза в сутки. Назначено дообследование: квантифероновый тест, КТ-

исследование органов средостения. По данным КТ-исследования органов средостения данных за туберкулезный процесс не получено. Квантифероновый тест отрицательный.

От 31.05.2012 г. ответ окончательного бактериологического исследования ликвора — выделены культуры *Listeria monocytogenes* (с вероятностью 99,8%) и *Yersinia pseudotuberculosis* (с вероятностью 80%).

На основании тяжести состояния, выраженности общемозговой симптоматики, отсутствия эффекта от стартовой антимикробной терапии, высева листерий из ЦСЖ заподозрен листериоз нервной системы, проведена коррекция терапии. Ребенку назначен ампициллин по 3,0 г 3 раза в сутки парентерально, продолжен амикацин в прежней дозе. Для уточнения роли иерсиний в генезе болезни было проведено серологическое исследование крови 06.06.2012 г. (13-й день болезни) (ИФА на основе белков наружных мембран патогенных иерсиний), которое выявило высокие уровни специфических IgM — 74,8 ЕД/мл (выше 24 ЕД/мл — положительно) и IgG — 129,9 ЕД/мл (выше 24 ЕД/мл — положительно), что позволило подтвердить роль *Yersinia pseudotuberculosis* в генезе поражения ЦНС. На фоне комбинированной антимикробной терапии к 02.06.2012 г. отмечалась отчетливая положительная динамика: длительный период аперексии, улучшение общего состояния, значительное уменьшение головных болей, уменьшение выраженности оболочечных симптомов. Основываясь на отрицательных результатах компьютерной томографии средостения, отрицательном квантифероновом тесте, а также получении культур листерий и иерсиний из ликвора, положительной динамики в течение заболевания по клинико-лабораторным и анамнестическим данным выставлен диагноз «Генерализованная бактериальная инфекция, смешанной листериозно-псевдотуберкулезной этиологии. Менингоэнцефалит». Туберкулезный менингит был исключен. После подтверждения смешанного листериозно-иерсиниозного генеза менингоэнцефалита антимикробная терапия была продолжена.

На фоне проводимой терапии на 15-й день от начала заболевания (08.06.2012 г.) проведена контрольная люмбальная пункция. В ликворе выявлено снижение плеоцитоза до 2580 клеток в 1 мкл с преобладанием мононуклеаров (89,76%), содержание белка снизилось до 1,59 г/л. Этиотропная и патогенетическая (мочегонные, препараты калия, витаминно-минеральные комплексы) терапия была продолжена. Санация ликвора имела место на 34-й день от начала заболевания, длительность антимикробной терапии составила 23 дня. К моменту выписки (26.06.2012 г.) состояние ребенка расценено как удовлетворительное,

в неврологическом статусе без очаговой и менингеальной симптоматики. Провел в стационаре 29 койко-дней. При диспансерном наблюдении пациента на протяжении 2 месяцев сохранялся астеновегетативный синдром.

Заключение

Представленный случай подтверждает атипичность клинической картины заболевания при микст-инфекциях у детей, а также возможность осложненного течения заболевания при поздней диагностике и неадекватной терапии.

Таким образом, в связи с возрастанием частоты микст-инфекции в последние годы при атипичной клинической картине заболевания у детей необходимо широкое обследование на различные возбудители с учетом анамнестических и клинических данных. При серозном характере цереброспинальной жидкости, отсутствии эффекта от традиционной терапии, ухудшении состояния с поражением центральной нервной системы следует исключать туберкулезную, листериозную, иерсиниозную этиологию заболевания, отличающихся отсутствием эффекта при назначении цефалоспоринов. При подозрении на микст-инфекцию терапевтическая тактика осуществляется эмпирически, исходя из предположения о вероятных ассоциантах, не дожидаясь результатов лабораторного обследования.

Литература

1. Sindic, C.J. Clinical relevance of polymerase chain reaction (PCR) assays and antigen driven immunoblots for the diagnosis of neurological infectious diseases / C.J. Sindic, M.P. Van Antwerpen, S. Goffette // *Brain Res. Bull.* — 2003. — V. 61 (3). — P. 299–308.
2. Нелюбин, В.Н. Микст-инфекция *Mycobacterium tuberculosis*, *herpes human virus VI* у детей / В.Н. Нелюбин [и др.] // *Международный медицинский журнал.* — 2005. — № 4. — С. 11–12.
3. Тихомирова О.В. Острые кишечные инфекции смешанной этиологии: особенности течения и терапии / О.В. Тихомирова [и др.] // *Терапия инфекционных заболеваний у детей: современные представления и нерешенные вопросы. Материалы конференции НПК.* — 2005. — С. 122.
4. Попова, О.В. Клинико-иммунологическая характеристика иерсиниозной инфекции / О.В. Попова, И.В. Шепелева, И.В. Шестакова // *Инфекционные болезни.* — 2006. — Т. 4, № 3. — С. 51–55.
5. Иванова, В.В. Иммунопатогенез инфекционных болезней у детей / В.В. Иванова // *Детские инфекции.* — 2005. — Т. 4, № 1. — С. 6–11.
6. Шостакович-Корецкая, Л.Р. Использование циклоферона в терапии инфекционных заболеваний у детей / Л.Р. Шостакович-Корецкая [и др.] // *Международный медицинский журнал.* — 2002. — № 3. — С. 270–272.
7. Юрсова, Е.Н. Клинико-патогенетическая характеристика сочетанных иерсиниозных инфекций у детей : автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Е.Н. Юрсова. — Владивосток, 2009. — 154 с.
8. Мусабаев, И.К. *Руководство по воздушно-капельным инфекциям* / И.К. Мусабаев. — Ташкент, 1982. — 682 с.
9. Быковский, А.Ф. Смешанные инфекции / А.Ф. Быковский. — <http://www.ordodeus.ru>
10. Stephen, T. Abedon (abedona.1@osu.edu) for Micro 509 at the Ohio State University Black, 1999(3/28/2003) / T. Stephen. — <http://www.pstcc.edu/mfhicks/biol2230/charter14notes.html>
11. Dzharfarova, K.A. To study of etiopathogenetic peculiarities of meningitis in children / K.A. Dzharfarova // *Georgian Med. News.* — 2009. — № 172–173. — P. 59–61.
12. Протасеня, И.И. Клинические проявления бактериального гнойного менингита смешанной этиологии у детей / И.И. Протасеня [и др.] // *Здравоохранение Дальнего Востока.* — 2011. — № 2. — С. 38–39.
13. Disson, O. Targeting of the central nervous system by *Listeria monocytogenes* / O. Disson, M. Lecuit // *Virulence.* — 2012. — № 3 (2). — P. 213–221. — doi: 10.4161/viru.19586. Epub 2012 Mar 1.
14. Cabezas, P. Meningitis caused by *Listeria monocytogenes* with high levels of adenosine deaminase / P. Cabezas [et al.] // *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* — 2011. — № 29 (3). — P. 240.
15. Laciari, A.L. Neonatal *Listeria*-meningitis in San Luis, Argentina: a three-case report / A.L. Laciari, M.L. Vaca Ruiz, A. Le Monnier // *Rev. Argent. Microbiol.* — 2011. — № 43 (1). — P. 45–47.
16. Ben Shimol, S. *Listeria* meningitis and ventriculitis in an immunocompetent child: case report and literature review / S. Ben Shimol, M. Einhorn, D. Greenberg // *Infection.* — 2012. — № 40 (2). — P. 207–211.
17. Oğuz, S.S. A case of neonatal meningitis due to *Listeria monocytogenes* serotype 1/2b / S.S. Oğuz [et al.] // *F. Mikrobiyol. Bul.* — 2011. — № 45 (3). — P. 541–545.
18. *Инфекционные болезни у детей : руководство* / под ред. В.В. Ивановой. — СПб., 2009. — 832 с.
19. Кареткина, Г.Н. Листериоз / Г.Н. Кареткина // *Лечащий врач.* — Т. 8, № 9. — С. 13–15.
20. Бехтерева, М.К. Способ прогнозирования течения иерсиниозов у детей / М.К. Бехтерева [и др.]. — Патент на изобретение № 2422828 -2011.
21. Лобзин, Ю.В. Менингиты и энцефалиты : методическое пособие / Ю.В. Лобзин, В.В. Пилипенко, Ю.Н. Громыко. — СПб.: Фолиант, 2006. — 128 с.

Авторский коллектив:

Скрипченко Наталья Викторовна — заместитель директора по научной работе Научно-исследовательского института детских инфекций ФМБА России, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)234-10-38; e-mail: rmtc@mail.ru

Мазаева Екатерина Михайловна — очный аспирант Научно-исследовательского института детских инфекций ФМБА России, тел.: 8(812)234-19-01; e-mail: yekat.mazaeva@yandex.ru

Бехтерева Мария Константиновна — старший научный сотрудник отдела кишечных инфекций Научно-исследовательского института детских инфекций ФМБА России, к.м.н.; тел.: 8(812)234-19-01

Иванова Марина Витальевна — старший научный сотрудник отдела нейроинфекций и органической патологии нервной системы Научно-исследовательского института детских инфекций ФМБА России, к.м.н.; тел.: 8(812)234-19-01



БЕЛЫЕ НОЧИ ГЕПАТОЛОГИИ 2013

ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ КУРС И НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
ПОД ЭГИДОЙ ЕВРОПЕЙСКОЙ АССОЦИАЦИИ ПО ИЗУЧЕНИЮ ПЕЧЕНИ (EASL)

ОТЕЛЬ CROWNE PLAZA ST. PETERSBURG AIRPORT
6-7 ИЮНЯ 2013 ГОДА САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

ЕВРОПЕЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ ПО ИЗУЧЕНИЮ ПЕЧЕНИ (EASL)

Ежегодно под эгидой EASL в мире проходит более 10 конференций, освещающих вопросы гепатологии. Большинство из них ежегодные и, как правило, монотематические. В наступившем году в число этих знаковых мероприятий включена уже пятая международная конференция «Белые ночи гепатологии - 2013», которая по традиции будет проходить в Санкт-Петербурге в период Белых ночей. В рамках предстоящего двухдневного форума состоится образовательный курс *Using Direct Acting antivirals for treatment of viral hepatitis C: recent advances and future perspectives* (Использование препаратов с прямым противовирусным действием в терапии гепатита С: последние достижения и перспективы) в первый день и сателлитные симпозиумы — во второй.

ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ КУРС

суммирует самые последние достижения в области диагностики, профилактики, понимания патогенеза и течения вирусных поражений печени, а также стандартов терапии.

САТЕЛЛИТНЫЕ СИМПОЗИУМЫ

позволят флагманам фарминдустрии представить информацию о лечении вирусных гепатитов и иных заболеваний печени, ознакомив с детальными сведениями о производимых ими препаратах. В рамках конференции будет открыта выставка для спонсоров.

Генеральные спонсоры:

MSD, Janssen Pharmaceutical Companies
of Johnson & Johnson

Спонсоры конференции:

Bristol-Myers Squibb, Novartis, Roche, Gilead,
Biocad, JanssenTMC, GlaxoSmithKline,
Alfa Wassermann, Дельрус

Лекторы конференции:

члены правления EASL: профессор Mark Thursz (генеральный секретарь EASL, Великобритания), профессор Markus Peck-Radosavljevic (вице-секретарь EASL, Австрия), профессор Michael Manns (Германия), профессор Jean-Michel Pawlotsky (Франция), профессор Thomas Berg (Германия), профессор David Back (Великобритания), профессор Tarik Asselah (Франция), профессор Christoph Sarrazin (Германия), а также ведущие гепатологи России.

Информационная поддержка и организация мероприятия

Некоммерческая общественная организация «Человек и его здоровье», имеющая колоссальный 15-летний опыт реализации медицинских и медико-социальных деловых проектов: конференций, конгрессов, выставок, семинаров, школ для врачей и пациентов и др. - в сотрудничестве с правительственными, государственными, научными, медицинскими и коммерческими учреждениями.

Оргкомитет:

представители EASL, МОО «Человек и его здоровье», фармкомпаний, видные российские ученые и врачи.

Председатели: проф. В.А. Исаков, проф. К.В. Жданов

Место проведения:

Санкт-Петербург, ул. Стартовая, д.6, лит А
CROWNE PLAZA St. PETERSBURG AIRPORT.

Регистрация и дополнительная информация
на сайте конференции: www.congress-ph.ru



ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Тематика «Журнала инфектологии» — актуальные вопросы и достижения в области инфекционных болезней, медицинской паразитологии и микологии, эпидемиологии, микробиологии и молекулярной биологии, гепатологии, хирургических и терапевтических инфекций, а также организации здравоохранения и фармакоэкономики.

Журнал публикует теоретические обзоры и лекции, экспериментальные и клинические оригинальные исследования, краткие сообщения, дискуссионные статьи, заметки из практики, письма в редакцию, хронику событий научной жизни, нормативные акты, сведения о защите диссертаций в профильных советах.

Работы для опубликования в журнале должны быть представлены в соответствии с данными требованиями:

1. Статья должна быть напечатана на одной стороне листа размером А4, с полуторными интервалами между строками, со стандартными полями (слева — 3 см, справа — 1 см, сверху и снизу — 2,5 см), с нумерацией страниц (сверху в центре, первая страница без номера). Присылать следует 1 распечатанный экземпляр и электронный вариант на электронном носителе (CD-диск, дискета). Текст необходимо печатать в редакторе Word любой версии, шрифтом Times New Roman, 14 кеглем, без переносов. Кроме того, все работы, за исключением оригинальных исследований, могут быть присланы по электронной почте на адрес: **gusevden-70@mail.ru**

2. Объем обзорных статей не должен превышать 30 страниц машинописного текста, оригинальных исследований — 15, исторических статей — 10, кратких сообщений и заметок из практики — 5.

3. На отдельной странице указываются фамилия, имя, отчество всех авторов, их место работы и должности, ученая степень, ученое звание, телефонный номер и E-mail.

4. В начале первой страницы по центру указываются название статьи, инициалы и фамилия автора (авторов), название учреждения (й) и города (для иностранных авторов — также страны) **на русском и английском языках**.

5. Первая страница должна содержать **резюме на русском и английском языках** (объемом не более 250 слов каждая). В резюме должны быть изложены основные результаты, новые и важные аспекты исследования или наблюдений. Резюме

не должно содержать аббревиатур. В конце должны быть приведены **ключевые слова на русском и английском языках (не более 8)**. Далее следует текст статьи.

6. Текст статьи, в которой представляются оригинальные материалы, должен состоять из введения и выделяемых заголовками разделов: «**Цель исследования**», «**Материалы и методы**», «**Результаты и обсуждение**», «**Выводы**», «**Литература**». Особенно тщательно следует описывать материалы и методы исследования, точно указывать названия использованных реактивов, фирму-изготовителя и страну.

7. Если в статье имеется описание наблюдений на человеке, не используйте фамилии, инициалы больных или номера историй болезни, особенно на рисунках или фотографиях. При изложении экспериментов на животных укажите, соответствовало ли содержание и использование лабораторных животных правилам, принятым в учреждении, рекомендациям национального совета по исследованиям, национальным законам.

8. При первом упоминании терминов, неоднократно используемых в статье (однако не в заголовке статьи и не в резюме), необходимо давать их полное наименование и сокращение в скобках, в последующем применять только сокращение, однако их применение должно быть сведено к минимуму. Сокращение проводится по ключевым буквам слов в русском написании, например: источник ионизирующего излучения (ИИИ) и т.д. Тип приборов, установок следует приводить на языке оригинала, в кавычках; с указанием (в скобках) страны-производителя. Например: использовали спектрофотометр «СФ-16» (Россия), спектрофлуориметр фирмы «Hitachi» (Япония).

9. Таблицы должны содержать только необходимые данные и представлять собой обобщенные и статистически обработанные материалы. Каждая таблица снабжается заголовком и вставляется в текст сразу после ссылки на нее. Иллюстрации должны быть четкие, контрастные. Цифровые версии иллюстраций должны быть сохранены в отдельных файлах в формате Tiff, с разрешением **300 dpi** и последовательно пронумерованы. Подписи рисунков должны быть размещены в основном тексте. Перед каждым рисунком, диаграммой или таблицей в тексте обязательно должна быть ссылка. В подписях к микрофотографиям,

электронным микрофотографиям обязательно следует указывать метод окраски и обозначать масштабный отрезок. Диаграммы должны быть представлены в исходных файлах.

10. Библиографические ссылки в тексте должны даваться цифрами в квадратных скобках в соответствии со списком в конце статьи. Нумеруйте ссылки последовательно, в порядке их первого упоминания в тексте.

11. Библиографическое описание литературных источников должно соответствовать требованиям ГОСТ 7.1-2003 «Библиографическая запись. Библиографическое описание документа. Общие требования и правила составления».

Примеры:

Книга с одним автором

Небылицын, В.Д. Избранные психологические труды / В.Д. Небылицын. — М. : Педагогика, 1990. — 144 с.

Книга с двумя авторами

Корнилов, Н.В. Травматологическая и ортопедическая помощь в поликлинике : руководство для врачей / Н.В. Корнилов, Э.Г. Грязнухин. — СПб. : Гиппократ, 1994. — 320 с.

Книга с тремя авторами

Иванов, В.В. Анализ научного потенциала / В.В. Иванов, А.С. Кузнецов, П.В. Павлов — СПб. : Наука, 2005. — 254 с.

Книга с четырьмя авторами и более

Теория зарубежной судебной медицины : учеб. пособие / В.Н. Алисиевич [и др.]. — М. : Изд-во МГУ, 1990. — 40 с.

Автореферат диссертации

Еременко, В.И. О центральных и периферических механизмах сердечно-сосудистых нарушений при длительном эмоциональном стрессе : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / В.И. Еременко. — СПб. : ВМедА, 1997. — 34 с.

Из сборника

Михайленко, А.А. Хламидийные инфекции: гематозэнцефалический и гистогематический барьеры / А.А. Михайленко, Л.С. Онищенко // Актуальные вопр. клиники, диагностики и лечения : тезисы докл. науч. конф. — СПб. : ВМедА, 1999. — С. 284.

Жуковский, В.А. Разработка, производство и перспективы совершенствования сетчатых эндопротезов для пластической хирургии / В.А. Жуковский // Материалы 1-й междунар. конф. «Со-

временные методы герниопластики и абдоминопластики с применением полимерных имплантатов». — М. : Наука, 2003. — С. 17–19.

Глава или раздел из книги

Зайчик, А.Ш. Основы общей патофизиологии / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов // Основы общей патологии : учеб. пособие для студентов медвузов. — СПб. : ЭЛБИ, 1999. — Ч. 1, гл. 2. — С. 124–169.

Из журнала

Быков, И.Ю. Концепция подготовки врачебного состава и кадровой политики медицинской службы Вооруженных сил Российской Федерации / И.Ю. Быков, В.В. Шапо, В.М. Давыдов // Воен.-мед. журн. — 2006. — Т. 327, № 8. — С. 4–14.

Из газеты

Фомин, Н.Ф. Выдающийся ученый, педагог, воспитатель / Н.Ф. Фомин, Ф.А. Иванович, Е.И. Веселов // Воен. врач. — 1996. — №8(1332). — С. 5.

Фомин Н.Ф. Выдающийся ученый, педагог, воспитатель / Н.Ф. Фомин, Ф.А. Иванович, Е.И. Веселов // Воен. врач. — 1996. — 5 сент.

Статья из продолжающегося издания

Линденбрaten, А.Л. Опыт использования процессуального подхода к оценке качества медицинской помощи / А.Л. Линденбрaten // Бюллетень НИИ соц. гигиены, экон. и упр. здравоохранением. — 1993. — Вып. 1. — С. 36–45.

Патент

Пат. № 2268031 Российская Федерация, МПК А61Н23.00. Способ коррекции отдаленных последствий радиационного воздействия в малых дозах / Карамуллин М.А., Шутко А.Н., Сосюкин А.Е. и др.; опубл. 20.01.2006, БИ № 02.

12. Не допускается направление в редакцию работ, напечатанных в других изданиях или уже отправленных в другие редакции.

13. Редакция имеет право вести переговоры с авторами по уточнению, изменению, сокращению рукописи.

14. Рукописи, оформленные не в соответствии с правилами, к публикации не принимаются.

15. Присланные материалы по усмотрению редколлегии направляются для рецензирования членам редакционного совета.

16. Принятые статьи публикуются бесплатно. Рукописи статей авторам не возвращаются.

Справки по телефону: +7-901-375-15-19, факс: 8(812)234-96-91, e-mail: gusevden-70@mail.ru

КЛИНИКО–МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ДЕБЮТА ГЕПАТИТОВ ПРИ ВРОЖДЁННОЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ И ГЕПАТИТЕ С

Р.А. Ушакова¹, О.П. Ковтун¹, И.Е. Валамина^{1,4}, Н.Б. Блинкова^{1,2}, Я.М. Крохалева³, Л.М. Зигулева⁴, М.А. Шварц⁴, С.Н. Тупоногов⁴, А.М. Николаева⁴

¹ Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург

² Уральское отделение Российской академии наук, Екатеринбург

³ Свердловское областное патолого-анатомическое бюро, Екатеринбург

⁴ Областная детская клиническая больница № 1, Екатеринбург

Clinical and morphological variants of hepatitis onset with congenital cytomegalovirus and hepatitis C infection

R.A. Ushakova¹, O.P. Kovtun¹, I.E. Valamina¹, N.B. Blinkova¹, Ya.M. Krohaleva³, L.M. Ziguleva⁴, M.A. Shvarts⁴, S.N. Tuponogov⁴, A.M. Nikolaeva⁴

¹ Ural State Medical Academy, Yekaterinburg

² Ural Department of Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg

³ Sverdlovsk Regional Pathologic Anatomic office, Yekaterinburg

⁴ Regional Clinical Hospital № 1, Yekaterinburg

Резюме. Представлен сравнительный анализ клинико-морфологических данных у детей первого года жизни с врожденным гепатитом С и цитомегаловирусной инфекцией. У 97 больных гепатитом применён стандартный комплекс клинических и лабораторных исследований, верификация инфекционных агентов проведена методами ИФА и ПЦР-диагностики. Разрешение на проведение биопсии печени получено у родителей 28 детей. В гепатобиоптатах методом иммуногистохимии идентифицированы маркёры цитомегаловирусной инфекции (белок pp65 и p52) и гепатита С (хеликазы NS3). Вирус гепатита С выявлен у 41 ребёнка: 3а генотип – 68,3 %, 1в – 31,7 %. Врождённый гепатит С дебютирует в атипичной лёгкой форме и формирует хронический гепатит с фиброзом 1 степени. Маркёры репликации цитомегаловируса обнаружены у 56 детей. «Визитной карточкой» гепатита при цитомегаловирусной инфекции является затяжная желтуха, холестаз, гепатолиенальный синдром, ранний дебют болезни с повышением уровня трансаминаз и доминированием уровня АсАТ. Структурные изменения печени характеризуются наличием воспалительной инфильтрации, холестаза с признаками дуктулопатии, нарушением долькового строения. При врождённом цитомегаловирусном гепатите высока вероятность исхода заболевания в цирроз печени и неблагоприятный прогноз.

Ключевые слова: дети, желтуха, холестаз, врождённый гепатит С, цитомегаловирусный гепатит, цирроз печени.

Введение

Современная тенденция к нарастанию патологии гепатобилиарной системы (ГБС) у младенцев является очевидным фактом в эпоху эколо-

Abstract. We present comparative analysis of clinical – morphological data from infants with congenital cytomegalovirus and hepatitis C infection. 97 patients with hepatitis underwent a standard set of clinical and laboratory tests. ELISA and PCR were used to verify infectious agents. Informed consent to perform a liver biopsy was obtained from the parents of 28 children. immunohistochemical test of the liver samples managed to identify markers of cytomegalovirus (protein pp65 and p52) and hepatitis C (helicase NS3). The hepatitis C virus was detected in 41 patients: 3a genotype – 68.3 %, 1b – 31.7 % respectively. Congenital hepatitis C onset presents itself as mild and atypical and causes chronic hepatitis with the 1st degree fibrosis. Cytomegalovirus replication markers were found in 56 children. The most common manifestations of hepatitis associated with cytomegalovirus infection are prolonged jaundice, cholestasis, hepatolienalny syndrome, early onset of the disease with increased transaminase levels and dominance in AST. Structural changes of the liver are characterized by the presence of inflammatory infiltration, cholestasis with ductulopenia, lobular structure damage. Congenital cytomegalovirus-related hepatitis is likely to result in liver cirrhosis and is associated with poor prognosis.

Key words: infants, jaundice, cholestasis, congenital hepatitis C, cytomegalovirus hepatitis, cirrhosis.

гических катастроф, а пусковым фактором могут быть возбудители оппортунистических инфекций [1 – 3]. В настоящее время на территории Свердловской области отмечается снижение регистра-

ции случаев врождённого гепатита В, поскольку заболевание входит в перечень управляемых инфекций [4]. В современных условиях актуальность проблемы обеспечивается вирусами цитомегалии (CMV) и гепатита С (HCV) [5–7].

Врождённая цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ-инфекция) у новорождённых детей может быть следствием как первичной, так и реактивированной латентной инфекции у беременной женщины [5, 8]. В различных странах ЦМВ-инфекция регистрируется у 0,3–3% младенцев и в 90–95% случаев протекает в субклинической или хронической форме [1, 5]. Постнатально дети первых месяцев жизни инфицируются через грудное молоко при реактивации латентной инфекции у матери [9]. Многообразие клинических форм болезни в настоящее время регистрируется у иммунокомпетентных пациентов [2, 3, 5]. Поражение ГБС при ЦМВ-инфекции в периоде новорождённости проявляется либо дебютом неонатального гепатита, либо симптомами билиарной атрезии и гепатита, прогрессивно нарастающими после непродолжительного периода клинического благополучия [2, 5, 7, 10]. Последние годы внимание исследователей привлекает исход цитомегаловирусного гепатита (CMV-гепатит) в цирроз печени (ЦП), который может быть следствием внутриутробного инфицирования, клинически манифестирует на 1–2-м году жизни ребенка и в 87,7% случаев сочетается с поражением желчевыводящих путей [11].

В современных условиях циркуляция вируса гепатита С (НС-вируса) в популяции людей обеспечивается как искусственными (парентеральный), так и естественными путями передачи (половой, вертикальный). Перинатальное инфицирование играет ведущую роль в прогнозировании распространённости НС-вирусной инфекции в будущих поколениях и может привести к серьёзным экономическим потерям для общества [12]. Прогностическими критериями риска реализации перинатального инфицирования являются уровень вирусной нагрузки в крови беременной женщины и интранатальный путь передачи НС-вируса. Врождённый гепатит С (ВГС) дебютирует в 3,5–7,2% случаев в результате заражения новорождённых детей от матерей-носительниц HCV [6, 12]. Исследователи утверждают, что продолжительность и факт применения грудного кормления не влияют на частоту передачи инфекции. Диагностика ВГС у детей раннего возраста представляет определённые трудности, т.к. материнские антитела могут обнаруживаться до 15 месяцев жизни ребёнка и имеют транзитный характер носительства [6]. Выявлена прямая корреляционная связь между длительностью проведения естественного вскармливания и временем циркуляции в крови младенца суммарных материнских антител (antiHCV total), а репликация вируса сохраняется в течение трёх

лет жизни у 80,9% детей раннего возраста [6]. Вероятно, в случае реализации перинатального инфицирования спонтанной элиминации НС-вируса не происходит. Анализ морфометрических показателей гепатобиоптатов у детей позволил выявить достоверное преобладание фиброblastов, что свидетельствует о склерозирующем потенциале НС-вирусной инфекции и формировании фиброза печени в течение первых 10 лет болезни [13].

Цель исследования — провести сравнительный анализ клинико-морфологических данных и выявить особенности формирования патологии печени у детей первого года жизни с врождённым гепатитом С и цитомегаловирусной инфекцией.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 97 детей первого года жизни с проявлениями гепатита, рождённых в 2005–2011 гг. в семьях с риском перинатального инфицирования. Критериями исключения стали дети первого года жизни, имеющие в анамнезе наследственно-генетические заболевания, сепсис или малые гнойные инфекции, гемолитическую болезнь новорождённых, билиарную атрезию, врождённый сифилис, перинатальный контакт по ВИЧ-инфекции, наркотическую абстиненцию, инфекцию мочевой системы, стеноз привратника, кишечную непроходимость, лекарственно-индуцированный гепатит, длительное парентеральное питание.

Программа клинических исследований была одобрена этическим комитетом и проводилась при наличии информированного согласия родителей. Верификация возбудителей вирусного гепатита В, С и TORCH-инфекций осуществлялась методом твёрдофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем фирмы ЗАО «Вектор – Бест» (Новосибирск) с помощью комплекта оборудования «Tecan Sunrise» (Австрия). Индикацию генетического материала возбудителей, взятых из разных биологических сред, проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) наборами «АмплиСенс» (производство ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва). Реакция амплификации осуществлялась в амплификаторах с активным регулированием «Терцик» (производство ДНК-Технология), детекция продуктов ПЦР-амплификации проводилась методом электрофореза в агарозном геле. Методами ИФА и ПЦР-диагностики выявляли маркеры следующих инфекций: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Rubella*, *Hepatitis viruses B et C*, *Cytomegalovirus hominis*, *Herpesviruses hominis 1, 2 et 6*, *Epstein-Barr virus*, *Candida albicans*, *Toxoplasma gondii*, *Human immunodeficiency virus*.

В отделении раннего возраста Областной детской клинической больницы № 1 г. Екатеринбурга (главный врач к.м.н. С.Н. Боярский) под наблюдением находились 20 больных с CMV-гепатитом и 8 детей с ВГС, которым проводился стандартный комплекс лабораторно-инструментальных исследований и чрескожная пункционная биопсия печени. Морфологическое изучение биоптатов проходило на базе Свердловского областного патолого-анатомического бюро г. Екатеринбурга (заведующий к.м.н. Е.С. Беликов) и лаборатории гистологии ЦНИЛ Уральской государственной медицинской академии. Гепатобиоптаты подвергали стандартной гистологической обработке с окраской серийных срезов гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван-Гизону. Проводили ШИК-реакцию с целью окрашивания включений в цитоплазме гепатоцитов и базальных мембран желчных протоков, реакцию Перлса для выявления гемосидерина, окраску рубеоноводородной кислотой для обнаружения меди. В гистологическом заключении использовали полуколичественную оценку степени активности по Knodell и фиброза по Desmet [14, 15]. С целью идентификации маркёров ЦМВ-инфекции и ВГС исследовали гистологические срезы гепатобиоптатов с парафиновых блоков. Для проведения иммуногистохимического анализа (ИГХ) применяли универсальный иммунопероксидазный метод с использованием полимерной системы детекции «Histofine» и антител к белкам HCV — NS3 и CMV — pp65 (производитель «AbbotecTM, LLC» San Diego), антител к белку CMV — p52 (DDG 9/CCH 2, производитель «Cell MargueTM», USA). ИГХ-исследование проводили с постановкой положительного и отрицательного контролей для исключения ложнопозитивных и ложнонегативных результатов.

Сравнительный статистический анализ качественных признаков выполнили с помощью критерия хи-квадрат (χ^2) с поправкой Йейтса и точного критерия Фишера, достоверность полученных результатов оценивали при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Вирусный гепатит С верифицирован у 41 ребёнка: За генотип выявлен у 68,3% детей, 1в — 31,7%. О своём статусе носителя вируса гепатита С 30 (73,2%) женщин впервые узнали при наступлении беременности. На этапе наблюдения в роддоме 51,2% новорождённых были отлучены от грудного кормления. Врождённый гепатит С у 87,8% младенцев дебютировал повышением уровня трансаминаз после трёх месяцев жизни, желтуха была проявлением гепатита у 12,2% больных, анемия 1 степени диагностирована у 19,5% детей (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительный анализ клинико-лабораторных данных в группе детей с врождённым гепатитом С (n 41) и цитомегаловирусным гепатитом (n 56)

Признаки	HCV-гепатит, %	CMV-гепатит, %	p
Доношенные дети	100	89,3	0,08
Синдром задержки внутриутробного развития плода	21,9	16,1	0,64
Мужской пол	34,2	63,3	0,00
Естественное вскармливание	48,8	67,8	0,09
Перинатальный контакт с цитомегаловирусом матери	9,7	64,3	0,00
Вакцинация гепатита В в роддоме	97,6	67,8	0,00
Увеличение печени	100	98,2	1,00
Увеличение селезёнки	24,4	73,2	0,00
Гипотрофия	24,4	37,5	0,25
Нормохромная анемия 1 степени	19,5	60,7	0,00
Нормохромная анемия 2 степени	0	14,3	0,03
Затяжная желтуха	12,2	85,7	0,00
Увеличение трансаминаз до 3 мес.	12,2	78,6	0,00
Лимфадения	9,8	41,1	0,02
Нейтропения	0	23,2	0,00
Срыгивание, гастроэзофагальный рефлюкс	0	26,8	0,00
Холестаз	0	33,9	0,00
Ахолия	0	16,1	0,02
Тимомегалия	0	19,6	0,00
Перинатальное поражение ЦНС	19,5	91,1	0,00
Миотонический синдром	0	50,0	0,00
Гипертензионно-гидроцефальный синдром	0	41,1	0,00
Пирамидная недостаточность	0	37,5	0,00

Маркёры репликации цитомегаловируса обнаружены у 56 детей, в группе CMV-гепатитов мальчиков было достоверно больше — 63,3% ($p = 0,007$). При ЦМВ-инфекции дебют гепатита происходил до трёх месяцев жизни на фоне энтероколита ($p = 0,01$), затяжную желтуху отмечали у 85,7% младенцев ($p = 0,0005$), увеличение селезёнки регистрировали у 73,2% больных ($p = 0,0005$), нормохромную анемию 1 степени наблюдали у 60,7% ($p = 0,0007$) и 2 степени у 14,3% детей ($p = 0,03$), увеличение лимфатических

узлов — у 41,1% ($p=0,02$) (см. табл. 1). Синдром холестаза был проявлением CMV-гепатита в 33,9% случаев ($p=0,0007$), ахолию отмечали у 16,1% пациентов ($p=0,02$). ЦМВ-инфекция сопровождалась неврологической симптоматикой: перинатальное поражение ЦНС (ПП ЦНС) диагностировано у 91,1% ребёнка ($p=0,0005$), миотонический синдром выявлен у 50% и гидроцефальный синдром у 41,1% пациентов ($p=0,0005$), пирамидная недостаточность — у 37,5% детей ($p=0,0006$) (см. табл. 1). Синдром срыгивания наблюдали у 26,8% детей ($p=0,001$), которым по данным УЗ-исследования диагностирован гастроэзофагальный рефлюкс (ГЭР) 1–2 степени, тимомегалия выявлена у 19,6% больных CMV-гепатитом ($p=0,008$). Гиперферментемия при ЦМВ-инфекции регистрировалась в первые три месяца жизни у 78,6% детей ($p=0,0005$) и сопровождалась доминированием уровня АсАТ над показателями АлАТ ($p=0,005$).

При морфологическом исследовании гепатобилитов детей, больных CMV-гепатитом, наблюдалось нарушение долькового строения печени за счет сближения порталных трактов, отмечалось расширение порталных трактов вследствие формирующегося склероза и лимфоплазмоцитарной инфильтрации. В паренхиме долек обнаруживали гигантоклеточную трансформацию и некроз гепатоцитов, признаки внутрипеченочного холестаза (рис. 1). При проведении ИГХ в ядрах гепатоцитов выявлялась экспрессия антигена цитомегаловируса — белок p52 (рис. 2). У 7 (35%) больных CMV-гепатитом был определён гемосидероз печени. Выявленные нарушения пигментного обмена указывают на вторичный характер процесса, т.к. присутствие цитомегаловируса в ГБС «хозяина» может сопровождаться избыточным накоплением железа в гепатоцитах [16].

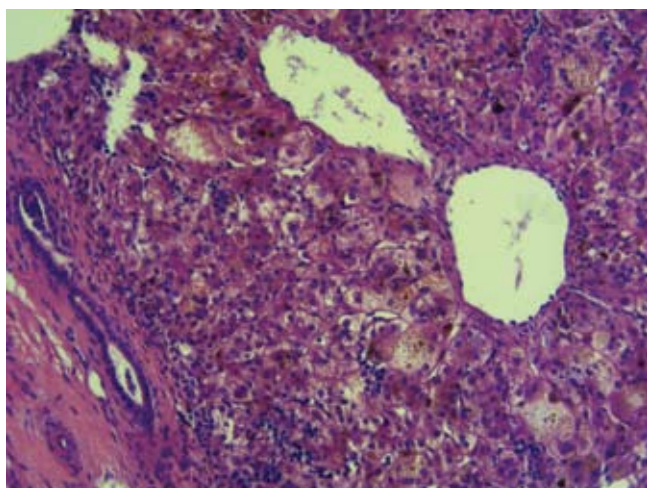


Рис. 1. Больной А., 4 мес. Врожденный цитомегаловирусный гигантоклеточный гепатит с холестазом, междольковые желчные протоки в порталном тракте сохранены. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×200

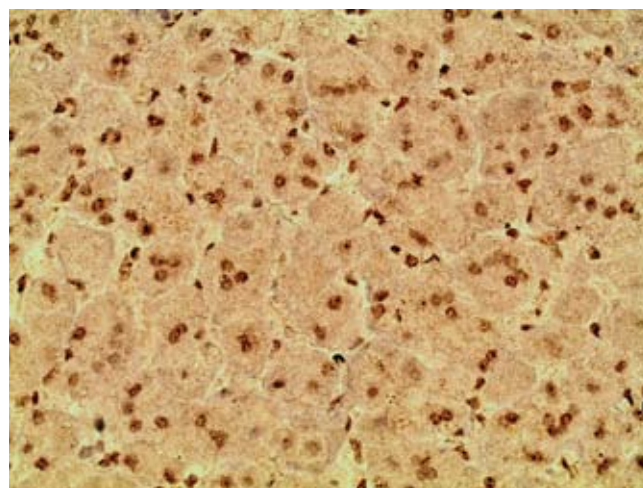


Рис. 2. Больной А., 4 мес. Врожденный цитомегаловирусный гепатит. Иммунопероксидазный метод. Экспрессия белка p52 цитомегаловируса в ядрах гепатоцитов, положительная реакция с антителами CMV-DDG 9/CCH 2. Ув.×400

В морфологической картине больных ВГС отмечалось расширение порталной стромы за счет склероза с преобладанием картины перипортального фиброза, обнаруживалась лимфогистиоцитарная инфильтрация порталной и внутридольковой стромы, в паренхиме печени определялись дистрофические и некробиотические изменения, признаки гигантоклеточного метаморфоза (рис. 3). При проведении ИГХ-исследования в цитоплазме гепатоцитов выявлялась экспрессия антигена HCV-вируса — белок NS3 (рис. 4).

У детей первого года жизни оценка структурных изменений в печени представляет определённые сложности, т.к. гистологические нарушения имеют неспецифический характер проявлений

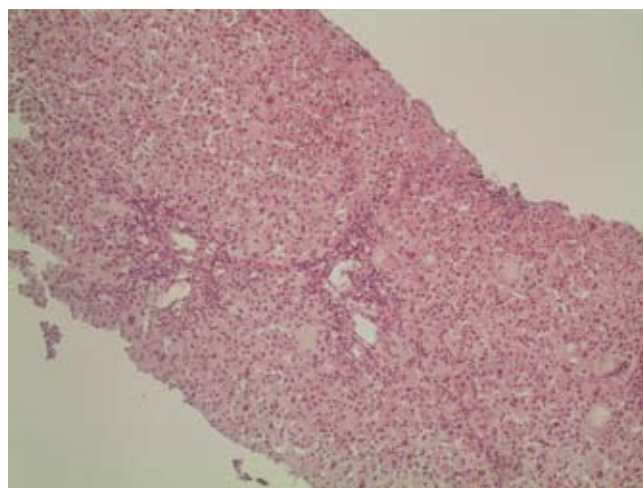


Рис. 3. Больной Б., 3,5 мес. Врожденный гепатит С. Портальный, перипортальный фиброз, лимфогистиоцитарная инфильтрация порталной и внутридольковой стромы. Белковая дистрофия и гигантоклеточная трансформация гепатоцитов. Окраска гематоксилином-эозином. Ув.×200

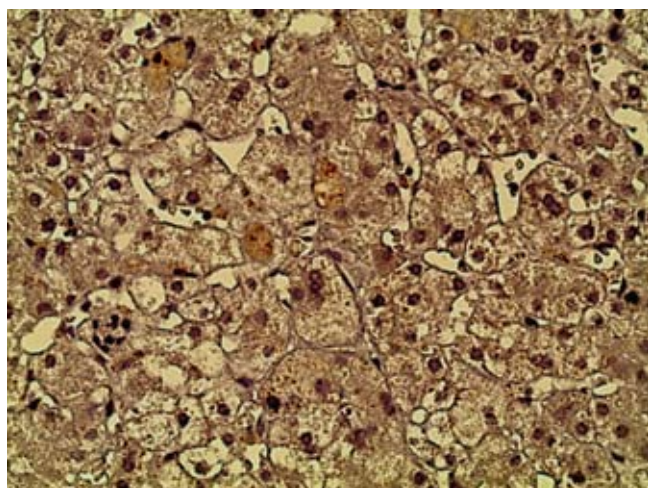


Рис. 4. Больной Б., 3,5 мес. Врожденный гепатит С. Иммунопероксидазный метод. Экспрессия белка HCV-NS3 в цитоплазме гепатоцитов, положительная реакция с антителами. Ув.×400

вследствие стереотипного ответа ГБС младенца на воздействие любого патологического агента. В морфологической картине обнаруживаются признаки гигантоклеточного метаморфоза гепатоцитов, процесс фиброза доминирует над некрозо-воспалительными изменениями, сохраняются очаги эритропоеза [17–19]. В этой связи нами проведён анализ частоты встречаемости основных патологических процессов, происходящих в печени больных детей, страдающих ВГС и врождённой ЦМВ-инфекцией (табл. 2).

Нарушение долькового строения печени и слабый фиброз (1 степени) наблюдали у пациентов обеих групп ($p=0,08$), проявления фиброза от умеренного до стадии цирроза (2–4 степени) были отмечены только при CMV-гепатите ($p=0,004$) (см. табл. 2). Инфильтрация портальной и внутридольковой стромы наблюдалась нами с одинаковой частотой в обеих группах ($p=0,20$), в инфильтрате обнаруживались лимфоциты ($p=0,13$) и эозинофилы ($p=0,43$). Гигантоклеточный метаморфоз гепатоцитов отмечали как при ВГС, так и при ЦМВ-инфекции ($p=0,31$), распространенность некроза клеток печени не имела достоверных отличий в группах ($p=0,34$). Признаки дуктулопии ($p=0,46$) и пролиферация желчных протоков ($p=0,34$) описаны при CMV-гепатите и ВГС. Морфологические признаки холестаза встречались у 65% больных CMV-гепатитом ($p=0,037$). Цирроз печени (ЦП) был проявлением исключительно ЦМВ-инфекции у 7 (12,5%) детей, в течение первого года жизни от печёночной недостаточности на фоне формирующегося ЦП погибли 4 (7,1%) ребёнка. Случаев летального исхода в группе больных с HCV-гепатитом не зарегистрировано.

Таблица 2

Сравнительный анализ основных морфологических признаков, наблюдаемых у детей первого года жизни при врождённом гепатите С (n 8) и цитомегаловирусном гепатите (n 20)

Признаки	CMV-гепатит	HCV-гепатит
Слабый фиброз (1 степени)	6/20	6/8
Умеренный, тяжёлый фиброз и цирроз печени (2–4 степени)	14/20*	0/8
Воспалительная инфильтрация портальной стромы	19/20	6/8
Воспалительная инфильтрация внутридольковой стромы	17/20	5/8
Преобладание лимфоцитов в инфильтрате	20/20	6/8
Преобладание эозинофилов в инфильтрате	10/20	2/8
Гигантоклеточный метаморфоз (ГКМ)	11/20	2/8
Слабая степень активности (дистрофия и некрозы гепатоцитов)	7/20	5/8
Умеренная степень активности (дистрофия и некрозы гепатоцитов)	8/20	1/8
Высокая степень активности (дистрофия и некрозы гепатоцитов)	2/20	0/8
Перидуктальный склероз	7/20	0/8
Признаки дуктулопии	7/20	1/8
Пролиферация междольковых желчных протоков	8/20	1/8
Признаки гемосидероза (накопление пигмента в гепатоцитах и макрофагах портальной стромы)	7/20	0/8
Признаки внутрипеченочного холестаза	13/20*	1/8

* – различия между группами достоверны, $p<0,05$.

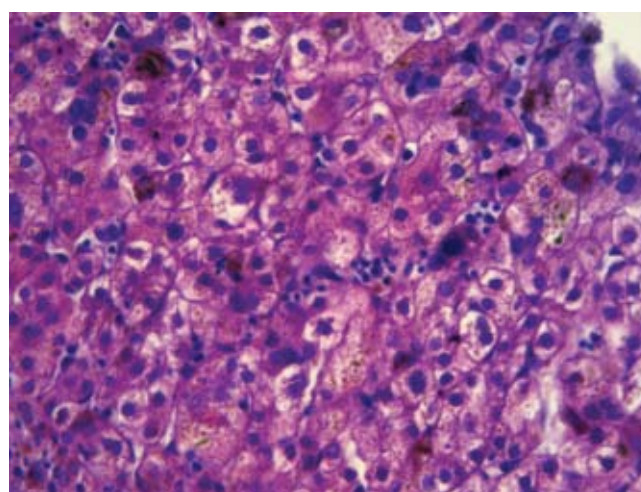


Рис. 5. Больной В., 1,5 мес. Среди гепатоцитов с признаками гигантоклеточной трансформации – клетка «совиный глаз». Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×400

Полисистемный характер клинических проявлений ЦМВ-инфекции с вовлечением органов центральной нервной системы, пищеварения, дыхания, мочевыделительной системы и анемию наблюдают многие исследователи, а генерализованное течение заболевания связывают с транспланцентарным механизмом заражения, отдалёнными последствиями которого могут быть тугоухость, ретинит с потерей зрения, задержка нервно-психического развития ребёнка [1, 2, 5]. ЦМВ-инфекция у новорождённых детей часто ассоциируется с пролонгированной желтухой в первые месяцы жизни и нередко сопровождается гепатолиенальным синдромом, гиперферментемией, холестазом, может наблюдаться ахолия как результат формирующейся гипоплазии желчных протоков [1, 3, 5, 7, 10, 18, 20]. При CMV-гепатите отмечается преобладание уровня АсАТ над показателями АлАТ, что, вероятно, обусловлено глубокими ультраструктурными нарушениями в клетках ГБС, индуцированными цитомегаловирусом [3, 5, 21]. Морфологические изменения при ЦМВ-поражении печени описываются в виде гигантоклеточного метаморфоза, холестаза, умеренной портальной воспалительной инфильтрации и формирующегося фиброза [18]. Специфическая для цитомегаловирусной инфекции гигантоклеточная трансформация эпителия междольковых желчных протоков и гепатоцитов обозначается термином «совиный глаз» и определяется спустя 6–8 недель после дебюта заболевания. В дальнейшем цитомегалические клетки подвергаются апоптозу и элиминируются, в этой связи в гепатобиоптате обычно обнаруживаются единичные подобные клетки, результаты такой находки представлены на рисунке 5. По данным исследователей, летальность при гепатите цитомегаловирусной этиологии достигает 7,7% и является следствием развивающейся недостаточности печени при тяжёлой форме ЦМВ-инфекции, а также при формировании цирроза печени [3, 11, 21].

В структуре неонатальных гепатитов ВГС диагностируется в 26% случаев, что совпадает с нашими исследованиями [3, 22]. НС-вирусная инфекция у детей раннего возраста принимает хроническое малосимптомное течение, торпидное к лечению [6]. На территории РФ у беременных женщин доминирует генотип 3а, а у детей первого года жизни выявлена тенденция к преобладанию 3а генотипа (47,6%) над 1в (38,1%) [6, 12]. В возрасте 2–9 месяцев жизни острый гепатит С протекает в безжелтушной или субклинической форме, гиперферментемия отмечается в 100% случаев, а увеличение размеров печени регистрируется только у 47,6% детей [6]. Мы наблюдаем гепатомегалию в дебюте заболевания у всех больных, а повышение уровня трансаминаз у 87,8% детей после 3 месяцев жизни

совпадает со сроками завершения инкубационного периода НС-вирусной инфекции.

Проведённый сравнительный анализ клинкоморфологических данных позволил выявить отличительные особенности дебюта поражений печени при врождённом гепатите С и цитомегаловирусной инфекции. Дифференциальная диагностика гепатитов у детей первого года жизни должна осуществляться по этиологическому принципу, поскольку в дальнейшем этот шаг поможет врачу подобрать адекватный протокол лечения.

Выводы

1. «Визитной карточкой» цитомегаловирусного гепатита у детей первого года жизни является затяжная желтуха, холестаза, гепатолиенальный синдром, ранний дебют заболевания с повышением уровня трансаминаз и доминированием уровня АсАТ. Синдромокомплекс гепатита протекает на фоне энтероколита, перинатального поражения ЦНС, миотонического и гидроцефального синдромов, пирамидной недостаточности, увеличения двух и более групп лимфатических узлов. При CMV-гепатите в сравнении с врождённым гепатитом С достоверно чаще диагностируются нормохромная анемия 1–2 степени, тимомегалия и гастро-эзофагальный рефлюкс.

2. Нарушения морфологической структуры печени при ЦМВ-инфекции характеризуются не только некрозо-воспалительными изменениями. При CMV-гепатите отмечаются проявления внутрипеченочного холестаза, возможно прогрессирование заболевания до тяжелой стадии фиброза и нарушение метаболизма железа с формированием гемосидероза гепатоцитов.

3. Врождённый гепатит С дебютирует атипично, протекает как первично-хронический гепатит с преобладанием картины слабовыраженного фиброза.

4. При ЦМВ-инфекции поражение ГБС может прогрессировать до стадии цирроза печени, а в течение первого года жизни от печёночной недостаточности погибает 7,1% детей. У больных с врождённым гепатитом С случаи летального исхода не зарегистрированы.

Литература

1. Гриноу, А. Врождённые, перинатальные и неонатальные инфекции / под ред. А. Гриноу, Дж. Осборна, Ш. Сазерленд. — М.: Медицина, 2000. — 288 с.
2. Геппе, Н.А. Поражение гепато-билиарной системы у новорожденных при внутриутробных инфекциях / Н.А. Геппе, О.С. Нестеренко, И.Н. Воложук // Детский доктор. — 1999. — Декабрь. — С. 30–33.
3. Ефремова, Н.А. Клинико-лабораторные особенности неонатальных гепатитов различной этиологии / Н.А. Ефремова [и др.] // Детские инфекции. — 2012. — Т. 11, № 2. — С. 8–11.
4. Романенко, В.В. Современные эпидемиологические особенности гепатита В в Свердловской области / В.В. Рома-

ненко [и др.] // Тезисы докл. Российской научно-практич. конференции «Вирусный гепатит В — диагностика, лечение и профилактика (к 40-летию открытия HBsAg)». — М., 19–20 мая 2004. — С. 151–153.

5. Русанова, Н.Н. Цитомегаловирусная инфекция у детей первых месяцев жизни / Н.Н. Русанова, С.Н. Теплова, С.А. Коченгина — СПб.: Лань, 2001. — 136 с.

6. Горячева, Л.Г. Диагностика и лечение вирусных гепатитов В и С у детей раннего возраста / Л.Г. Горячева, И.В. Шилова // Врач. — 2006. — № 8. — С. 32–35.

7. Shibata, Y. Association of cytomegalovirus with infantile hepatitis / Y. Shibata [et al.] // Microbiol. Immunol. — 2005. — № 49 (8). — P. 771–777.

8. Ornoy, A. Fetal effects of primary and secondary cytomegalovirus infection in pregnancy / A. Ornoy, O. Diav-Citrin // Reprod Toxicol. — 2006. — № 21 (4). — P. 399–409.

9. Kurath, S. Transmission of cytomegalovirus via breast milk to the prematurely born infant: a systematic review / S. Kurath [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. — 2010. — № 16 (8). — P. 1172–1178.

10. Goedhals, D. Human cytomegalovirus infection in infants with prolonged neonatal jaundice / D. Goedhals [et al.] // J. Clin Virol. — 2008. — № 43 (2). — P. 216.

11. Чуелов, С.Б. Циррозы печени инфекционной природы у детей : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / С.Б. Чуелов. — М., 2009. — 38 с.

12. Ершова, О.Н. Современные проявления эпидемического процесса гепатита С. Активность естественных путей передачи и совершенствование профилактики этой инфекции : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / О.Н. Ершова. — М., 2006. — 39 с.

13. Пучков, Ю.Б. Морфофункциональная характеристика печени при хронических вирусных гепатитах В и С у детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Ю.Б. Пучков. — Хабаровск, 2005. — 22 с.

14. Knodell, R.S. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic active hepatitis / R.S. Knodell [et al.] // JAMA. — 1985. — P. 627.

15. Desmet, V.J. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging / V.J. Desmet [et al.] // Hepatology. — 1994. — № 19. — P. 1513.

16. Murray, K.F. Neonatal hemochromatosis / K.F. Murray, K.V. Kowdley // Pediatrics. — 2001. — V. 108. — P. 960–964.

17. Серов, В.В. Морфологическая диагностика заболеваний печени / В.В. Серов, К. Лапиш. — М.: Медицина, 1989. — 336 с.

18. Комарова, Д.В. Морфологическая диагностика инфекционных поражений печени / Д.В. Комарова, В.А. Цинзерлинг. — СПб.: Сотис, 1999. — 245 с.

19. Шерлок, Ш. Заболевания печени и желчных путей / Ш. Шерлок, Дж. Дули ; под ред. З.Г. Апросиной, Н.А. Мухина. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. — 864 с.

20. Passos, O.A. Neonatal cholestasis and cytomegalovirus infection: clinical and histopathologic forms / O.A. Passos [et al.] // J. Pediatr (Rio J). — 1996. — № 72 (3). — P. 159–163.

21. Ожегов, А.М. Клинико-цитохимическая характеристика и отдаленные последствия гепатита у детей грудного возраста с активной цитомегаловирусной и сочетанной с ней хламидийной инфекцией / А.М. Ожегов [и др.] // Педиатрия. — 2000. — № 4. — С. 11–15.

22. Ушакова, Р.А. Особенности течения гепатита у детей первого года жизни, рожденных в группе риска перинатального инфицирования / Р.А. Ушакова, М.А. Шварц, С.Н. Тупоногов // Материалы Всероссийского ежегодного конгресса «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика». — СПб., 5–6 октября 2011. — Т. 3, №3. — С. 98–99.

Авторский коллектив:

Ушакова Рима Асхатовна — доцент кафедры педиатрии и неонатологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки Уральской государственной медицинской академии, к.м.н.; тел. 8-912-667-48-81, e-mail: nikolay_ushakov@olympus.ru

Ковтун Ольга Петровна — заведующая кафедрой педиатрии и неонатологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки Уральской государственной медицинской академии, д.м.н., профессор, проректор по науке Уральской государственной медицинской академии; тел.: 8(343)214-86-79, e-mail: kovtun@usma.ru

Валамина Ирина Евгеньевна — доцент кафедры патологической анатомии Уральской государственной медицинской академии, заведующая лабораторией гистологии центральной научно-исследовательской лаборатории Уральской государственной медицинской академии, к.м.н.; тел.: 8(343)214-85-56, e-mail: ivalamina@mail.ru;

Блинкова Наталья Борисовна — старший научный сотрудник Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, к.м.н.; e-mail: nbkrohina@e1.ru

Крохалёва Ярослава Михайловна — заведующая отделением детской патологии областного управления здравоохранения Свердловского областного патолого-анатомического бюро; тел.: 8(343)240-43-93

Зигулева Лидия Максимовна — заместитель главного врача по педиатрии Областной детской клинической больницы № 1; тел.: 8(343)240-58-03, e-mail: mail@odkb.ru

Шварц Марина Александровна — заведующая отделением раннего возраста Областной детской клинической больницы № 1; тел.: 8(343)240-59-88, e-mail: mail@odkb.ru

Тупоногов Сергей Николаевич — хирург-онколог Областной детской клинической больницы № 1; тел.: 8(343)240-57-80, e-mail: mail@odkb.ru

Николаева Альбина Михайловна — биолог лабораторного отделения детской онкологии и гематологии Областной детской клинической больницы № 1; тел.: 8(343)216-25-14, e-mail: mail@odkb.ru