



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ИЗДАЕТСЯ С СЕНТЯБРЯ 1924 г.

ОРГАН МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

№10/2012

Журнал награжден
Почетной Грамотой
Верховного
Совета БССР (1974 г.)



Победитель VIII
Национального
конкурса
«Золотая Литера»
в номинации
«Лучшее
специализированное,
отраслевое издание»
(2012 г.)

Журнал входит в Перечень научных изданий
Республики Беларусь для опубликования
результатов диссертационных исследований

Редакционная коллегия:

АХТЕМИЙЧУК Ю. Т. (Украина)
БАРКОВСКИЙ Е. В.
БЕЛЕЦКИЙ А. В.
БЮХЛЕР М. В. (Германия)
ВЕКСНЕР С. (США)
ВОЛОТОВСКИЙ И. Д.
ВОРОБЕЙ А. В.
ГЕРАСИМОВИЧ Г. И.
ДЕДОВ И. И. (Россия)
ЖАРКО В. И.
ЗАТЕВАХИН И. И. (Россия)
КАРПОВ И. А.
КЕВРА М. К.
КОВАЛЕНКО В. Н. (Украина)
КУБАРКО А. И.
МАЛИНОВСКИЙ Н. Н. (Россия)

МАНАҚ Н. А.
МИХАЙЛОВ М. И. (Россия)
НАСОНОВ Е. Л. (Россия)
ПОКРОВСКИЙ В. И. (Россия)
ПОТАПНЕВ М. П.
СМЫЧЕК В. Б.
СОРОКА Н. Ф.
СУКАЛО А. В.
СУКОНКО О. Г.
СУСЛИНА З. А. (Россия)
ТЕРНОВ В. И.
ТИТОВ Л. П.
ХОЛОДОВА Е. А.
ЧЕРСТВЫЙ Е. Д.
ЧУЧАЛИН А. Г. (Россия)
ШОТТ А. В.

Главный редактор
Ю. К. АБАЕВ

Зам. гл. редактора
В. С. УЛАЩИК
Отв. секретарь
Л. А. ФЕДОТОВА



Редакционный совет:

ВАСИЛЬКОВ Н. А.
ГАЕВСКИЙ И. В.
ГОДОВАЛЬНИКОВ Г. В.
ДЕЙКАЛО В. П.
ДЕМИДЧИК Ю. Е.
ДЕРКАЧ Ю. Н.
ЛИПНИЦКИЙ И. Э.
ЛОСИЦКИЙ И. Г.
ЛЫЗИКОВ А. Н.

МАСЛО И. Б.
ПИНЕВИЧ Д. Л.
СИКОРСКИЙ А. В.
СИРЕНКО В. И.
СНЕЖИЦКИЙ В. А.
СТРИЖАК А. А.
ЧАСНОЙТЬ Р. А.
ШРУБОВ В. И.

Дорогие коллеги!



Известная фраза «Все болезни человека делятся на инфекционные и те, которые ошибочно считают неинфекционными» сегодня все больше находит подтверждение. Высказывание Л. Пастера о том, что 95% всех заболеваний человека имеют инфекционную природу, уже не кажется столь абсурдным.

Достижения в борьбе с инфекционными болезнями в XX веке увеличили продолжительность жизни человека почти на 25 лет. Тем не менее они по-прежнему уносят миллионы жизней, нанося огромный демографический, социальный и экономический ущерб, обуславливая 90% мертворождений и 25% смертности. И это без учета других заболеваний, инфекционная природа которых доказана или предполагается. Система официальной регистрации не дает реального представления об удельном весе инфекционных болезней среди общей заболеваемости населения. До настоящего времени остается неясным весь спектр данной патологии, многочисленные проявления которой застают врасплох даже опытных специалистов.

Свидетельством ограниченности наших знаний является более частое выявление новых и возврат старых инфекций, объявленных побежденными, доказательство роли инфекционных факторов в этиологии многих иных заболеваний (первичная карцинома печени, цирроз печени, рак шейки матки, некоторые миокардиопатии, болезнь Крейтцфельдта-Якоба, саркома Капоши, Т-клеточная лимфома и лейкемия, ряд психозов, лимфома Беркита и др.).

Ускоряется эволюция инфекционных болезней и темпы ее измеряются уже не столетиями, а десятилетиями. За последние годы клинические и эпидемиологические проявления многих инфекций изменились больше, чем за всю историю наблюдений за ними. Прежде наиболее актуальными были острые формы заболеваний, сейчас возрастает значение хронических, прогредиентных (СПИД, гепатиты и др.). Растет удельный вес болезней, обусловленных условно-патогенными возбудителями.

Ведущими причинами возникновения новых и изменения характера течения известных инфекций являются влияние антропогенных факторов, изменение образа жизни человека, внедрение новых технологий. Многие из вновь выявленных инфекционных болезней относятся к зоонозам, что свидетельствует о растущей способности микроорганизмов преодолевать межвидовой барьер. Примерами последнего времени являются SARS, грипп птиц, энцефалиты, вызванные вирусами Nipah и Hendra.

Особого внимания заслуживает безопасность использования новых методов лечения, которые могут быть причиной инфекционной патологии или провоцировать ее развитие. Это трансплантация органов и применение клеточных технологий. Известны попытки генной терапии ряда наследственных и хронических заболеваний с использованием вирусов, которые помимо генерализации инфекции провоцировали изменение генома у пациентов. Аналогичным образом пересадка костного мозга больным лейкозами на фоне иммуносупрессии способна вызывать у реципиентов вторичные инфекции, обусловленные вирусами, определение которых в трансплантате представляет известные трудности.

Недостаточность наших знаний о природе инфекционных болезней, неспособность прогноза, полноценного выявления и контроля над ними является основой для манипулирования общественным мнением и нагнетания панических настроений с целью получения политических и экономических выгод.

Данные обстоятельства выдвигают на первый план проблему инфекционной патологии, которая уже сегодня вышла далеко за рамки этого раздела медицины. Как изменится структура инфекционных заболеваний? Какими будут ведущие механизмы и факторы передачи возбудителей? Как модифицируется резистентность человека к инфекционным агентам? Какие средства потребуются для предупреждения и уменьшения последствий ожидаемых пандемий? Инфекции далеко не исчерпали своего смертоносного потенциала, и это заставляет человечество с опаской смотреть в будущее.

В Беларуси достигнуты значительные успехи в борьбе с инфекционными болезнями, однако нельзя забывать, что инфекции не знают границ и представляют собой постоянную угрозу. Надеемся, что публикация статей сотрудников РНПЦ эпидемиологии и микробиологии в журнале «Здравоохранение» расширит представление о современной инфекционной патологии и поможет нашим читателям в решении проблем, возникающих в их практической работе.

С уважением

Ю. К. Абаев

Клиническая медицина

Фомина М. П., Дивакова Т. С. Синдром задержки роста плода у беременных 4

Проблемы эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней

Хрусталева В. В., Барковский Е. В., Колодкина В. Л. Вероятность воспроизведения вторичной структуры наиболее антигенных областей дифтерийного токсина в составе коротких пептидов 9

Семижон П. А., Счесленок Е. П., Фомина Е. Г., Школина Т. В., Красько А. Г., Муканов К. К., Владыко А. С. Получение и оценка специфичности рекомбинантного полипептида нуклеокапсидного белка вируса крымско-конго-геморрагической лихорадки 13

Газиумарова Л. Д., Титов Л. П., Левшина Н. Н., Гвоздик С. Б. Разработка сухой селективной среды для выделения листерий 17

Дракина С. А., Хмара М. Е., Стегний В. А., Тимофеева Е. В., Верещачко Н. С., Лихачев С. А., Ровбуць С. М. Особенности вирусно-бактериальных ассоциаций при демиелинизирующих заболеваниях 22

Мишаева Н. П., Дракина С. А., Стегний В. А. Новые и малоизвестные для Республики Беларусь инфекции, переносимые иксодовыми клещами 25

Амвросьева Т. В., Поклонская Н. В., Гринкевич П. И., Богуш З. Ф., Кишкурно Е. П., Калачик О. В., Хило А. Н., Казинец О. Н. Вирусные инфекции у пациентов после трансплантации почки 29

Казинец О. Н., Амвросьева Т. В., Поклонская Н. В., Хило А. Н., Гринкевич П. И., Богуш З. Ф. Применение полимеразной цепной реакции для рутинной диагностики заболеваний, передаваемых половым путем 34

Лекции и обзоры

Шималов В. В., Акимова Л. Н., Бычкова Е. И. Церкариозы — актуальная эколого-медицинская проблема Беларуси 36

Усс А. Л. Роль аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в лечении пациентов с рецидивами и рефрактерными формами лимфомы Ходжкина 42

Герасимович Г. И. Особенности репродуктивного здоровья в современных условиях 47

Гончар И. А. Прогрессирующий ишемический инсульт: патогенетические механизмы развития 55

Качанко Е. Ф., Карпов И. А. Современные подходы к специфической профилактике пневмококковых инфекций 60

Обмен опытом

Герасименя В. П., Милевич Т. И., Наумов А. Д., Захаров С. В., Поляков В. Ю., Кирьянов Г. И., Гумаргалиева К. З., Путырский Л. А., Путырский Ю. Л., Сачек М. М. Противоопухолевая активность экстракта мицелия гриба «вешенка обыкновенная» 64

Случаи из практики

Михневич Э. А., Артишевская Н. И., Кручина Н. А. Дифференциальная диагностика туберкулезного коксита 69

Новости ВОЗ в Беларуси

Винке Бурма: «Я вижу заинтересованность и энтузиазм людей в Беларуси» 73

Галина Перфильева: «Закружила мир карусель миграции» 75

Юрист разъясняет 77

В свободный час

Мудрые мысли знаменитых врачей 79

Clinical Medicine

Fomina M. P., Divakova T. S. Retardation of fetus growth in pregnant women

Problems of Epidemiology, Microbiology, and Infectious Diseases

Khrustalev V. V., Barkovsky E. V., Kolodkina V. L. Probability of diphtheria toxin antigenic regions secondary structure reproduction in short peptides

Semizhon P. A., Scheslenok E. P., Fomina E. G., Shkolina T. V., Krasko A. G., Mukanov K. K., Vladyko A. S. Generation of Crimea-Congo-hemorrhagic fever causing virus recombinant polypeptide nucleocapsid protein and assessment of its specificity

Gaziumarova L. D., Titov L. P., Levshina N. N., Gvozdik S. B. Development of dry selective medium for separating *Listeria*

Drakina S. A., Khmara M. E., Stegny V. A., Timofeyeva E. V., Vereshchako N. S., Likhachev S. A., Rovbut S. M. Peculiar features of virus and bacteria associations under demyelinating diseases

Mishayeva N. P., Drakina S. A., Stegny V. A. Infections transmitted by ixodes ricinus unknown or unfamiliar in the Republic of Belarus

Amvrosieva T. V., Poklonskaya N. V., Grinkevich P. I., Bogush Z. F., Kishkurno E. P., Kalatchik O. V., Khilo A. N., Kazinets O. N. Viral infections in patients having undergone kidney transplantations

Kazinets O. N., Amvrosieva T. V., Poklonskaya N. V., Khilo A. N., Grinkevich P. I., Bogush Z. F. Polymerase chain reaction application for routine diagnosis of sexually transmitted diseases

Lectures and Reviews

Shimalov V. V., Akimova L. N., Bytchkova E. I. Cercariasis as Belarus ecologic and medical actual problem

Uss A. L. Hematopoietic stem cells allogenic transplantation role in managing patients suffering from Hodgkin's lymphoma relapses or refractory forms

Gerasimovich G. I. Reproductive health specific features nowadays

Gontchar I. A. Progressive ischemic stroke: pathogenetic mechanisms of development

Katchanko E. F., Karpov I. A. Up-to date approaches to pneumococcal infection specific prevention

Sharing Experience

Gerasimenya V. P., Milevich T. I., Naumov A. D., Zakharov S. V., Polyakov V. Yu., Kiriyanov G. I., Gumargaliyeva K. Z., Putyrsky L. A., Putyrsky Yu. L., Sachek M. M. Antitumor activity of mycelium extract from oyster mushroom

Case Records

Mikhnevich E. A., Artishevskaya N. I., Krutchina N. A. Tuberculous coxitis differential diagnosis

WHO News in Belarus

Winke Burma: "I see Belarus people are interested and enthusiastic"

Galina Perfilyeva: "The world is whirled in the migration turnabout"

Lawyer is Explaining

At Leisure Time

Celebrated doctors' profound expressions



М. П. ФОМИНА, Т. С. ДИВАКОВА

СИНДРОМ ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА У БЕРЕМЕННЫХ

Витебский государственный медицинский университет

Цель исследования. Определение патогенетических вариантов синдрома задержки роста плода (СЗРП) на основе изучения параметров объемного плацентарного кровотока по данным трехмерного энергетического доплеровского картирования и уровня плацентарного фактора роста (PIGF) в крови беременных.

Материал и методы. Основную группу составили 42 беременные с задержкой роста плода, контрольную — 31 женщина с физиологическим течением беременности. В 28—34 нед гестации всем беременным выполняли трехмерное энергетическое доплеровское картирование плацентарного кровотока, определяли уровень PIGF в крови.

Результаты. При анализе параметров объемного плацентарного кровотока и уровня PIGF в крови у беременных выявлено два варианта течения СЗРП при плацентарной недостаточности: задержка роста плода с плацентарной нормоваскуляризацией и задержка роста плода с плацентарной гиповаскуляризацией.

Заключение. Выявление двух вариантов течения СЗРП позволяет дифференцировать тактику ведения беременности (медикаментозное лечение, досрочное родоразрешение), осложненной плацентарной недостаточностью и задержкой внутриутробного роста.

Ключевые слова: плацентарная недостаточность, задержка роста плода, плацентарный фактор роста, плацентарный кровоток.

Синдром задержки роста плода (СЗРП) является одним из маркеров плацентарной недостаточности, причиной перинатальной заболеваемости и смертности, повышенного риска внезапной младенческой смерти во всех странах мира, представляя проблему для здравоохранения в целом [1]. Задержка внутриутробного развития заявляет о себе не только в ранний неонатальный период, сопровождаясь синдромом дыхательных расстройств, повышенной нервно-рефлекторной возбудимостью или угнетением, бронхолегочной дисплазией, внутрижелудочковыми кровоизлияниями, гипертонно-гидроцефальным синдромом, но и спустя годы проявляется в виде снижения когнитивных функций, детского церебрального паралича, прогрессирующей гидроцефалии, олигофрении [2—4].

Задержка роста плода, как правило, клинически манифестирует в III триместре беременности. Многокомпонентная традиционная терапия, направленная на компенсацию плацентарной недостаточности, начатая в III триместре гестации после выявления задержки роста плода, по данным ультразвукового исследования, редко оказывается эффективной, так как в основе этого состояния лежат скрытые для диагностики в I и II триместрах беременности нарушения плацентации, связанные с неполноценной инвазией трофобласта, аномальным плацентарным васкуло- и ангиогенезом. В подобной ситуации досрочное родо-

разрешение — это единственное мероприятие, сводящее к минимуму риск гибели плода. После досрочного родоразрешения в дальнейшем требуется длительное выхаживание и реабилитация новорожденного.

Поиск терапевтических мишеней для предотвращения задержки роста плода должен основываться на детальном изучении патогенетических механизмов ее развития, на которые можно оказывать медикаментозное воздействие. В данной ситуации оправдано сместить акцент в тактике ведения пациенток с плацентарной недостаточностью и задержкой роста плода на раннюю доклиническую диагностику плацентарных нарушений, основанную на оценке варианта плацентарной васкуляризации и экспрессии факторов ангиогенеза, участвующих в формировании сосудистого русла плаценты.

Целью исследования явилось определение патогенетических вариантов задержки роста плода на основе изучения параметров объемного плацентарного кровотока по данным 3D энергетического доплеровского картирования и уровня плацентарного фактора роста в крови беременных.

Материал и методы

Обследовано 73 пациентки с одноплодной маточной беременностью в возрасте 18—40 лет, которые были разделены на 2 группы в зависимости от течения и исходов беременности. Основную группу составили 42 женщины с верифицированной асимметричной задержкой роста плода, диагностированной по данным ультразвуковой фетометрии и предполагаемого веса плода, подтвержденной у всех новорожденных. Критерием для диагностики асимметричной задержки роста плода явились: отставание роста окружности живота (ниже 5% для соответствующего гестационного возраста) и веса плода (ниже 10%). Средний срок родоразрешения в основной группе составил $36,1 \pm 1,4$ нед, средний вес новорожденного — 2105 ± 371 г (3—6% для данного гестационного возраста). У всех пациенток, включенных в исследование, плацента локализовалась по передней стенке матки, что делало доступными для ультразвукового исследования все ее зоны. Критерием исключения беременных из основной группы было наличие у плода хромосомных и генных аномалий, врожденных пороков развития и гемолитической болезни.

В контрольную группу вошла 31 пациентка с физиологическим течением беременности и рождением здоровых доношенных детей. Средний срок родоразрешения в контрольной группе составил $39,1 \pm 1,9$ нед, средний вес новорожденного — 3430 ± 382 г (51—62% для данного гестационного возраста).

Все пациентки в 28—34 нед беременности прошли общеклиническое обследование, ультразвуковое исследование плода с плацентометрией и оценкой количества околоплодных вод, доплерометрией кровотока в маточных артериях и артерии пуповины на аппа-

пате «Voluson 730 Expert» («GE Medical Systems», Австрия) трансабдоминальным датчиком AB2-7. Степень нарушения маточно-плацентарного кровотока в сосудах оценивали на основании полученных индексов резистентности (ИР) по нормативным таблицам в соответствии с принятой классификацией [5, 6].

Всем беременным выполнили 3D энергетическую доплеровскую реконструкцию плацентарного кровотока трансабдоминальным датчиком RAB2-5L согласно разработанной методике в программе VOCAL с определением индексов объемного кровотока: индекс васкуляризации (VI — процентное содержание сосудистых элементов в объеме плацентарной ткани), индекс кровотока (FI — средняя интенсивность кровотока), поточно-васкуляризационный индекс (VFI — количество крови, проходящей через данный объем) [7]. Анализ объемного кровотока материнской и плодовой части плаценты включал построение 5 гистограмм соответственно зонам плаценты (центральная, 2 парацентральные и 2 краевые).

У всех пациенток в 28—34 нед гестации определяли концентрацию плацентарного фактора роста (PIGF) в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа, использовали наборы «Quantikine» («R&D Systems», США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Гистоморфологическое исследование последа проведено по стандартной методике формалиновой фиксации. Приготовленные из парафиновых блоков срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Для статистического анализа использовали программу STATISTICA 6.0, методы непараметрической статистики (критерий Манна—Уитни, χ^2 , метод Пирсона). Различия между группами считали достоверным при $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$.

Результаты и обсуждение

Частота встречаемости первобеременных пациенток в основной группе была выше, чем в контрольной (54,8% и 29,0% соответственно, $\chi^2=14,1$, $P < 0,0002$), что согласуется с данными других исследователей [8]. Отягощенный акушерский анамнез (медицинские аборт, самопроизвольные выкидыши, неразвивающиеся беременности, послеоперационный рубец на матке) имел место у 13 (30,9%) женщин в основной группе, у 6 (19,4%) беременных в группе контроля ($\chi^2=3,9$, $P < 0,05$), что подтверждает значимость маточного фактора, а именно недостаточной секреторной трансформации и кровоснабжения эндометрия в реализации нарушения плацентации [4].

Одним из ангиогенных факторов, отвечающим за рост плаценты и ремоделирование маточно-плацентарного русла при беременности, является PIGF [9, 10]. Возрастание экспрессии PIGF вызывает увеличение количества, ветвления и размеров кровеносных сосудов, повышает сосудистую проницаемость, тогда как снижение продукции PIGF отмечается при гестозе, акушерских осложнениях, ассоциированных с ишемией плаценты [11—14].

По данным А. В. Орлова, снижение экспрессии PIGF при задержке роста плода отмечается у 100%

беременных и является достоверным доклиническим маркером рассматриваемой патологии [15]. Однако исследования концентрации PIGF в крови у женщин в основной группе в 28—34 нед гестации показали, что задержка роста плода была ассоциирована как с низким, так и с высоким уровнем данного фактора в сравнении с таковым в контроле. Данный факт позволил условно разделить основную группу по уровню PIGF в сыворотке крови на 2 подгруппы: подгруппа А (n=12) — с высокой концентрацией PIGF по отношению к уровню в контрольной группе, подгруппа В (n=30) — с низкой концентрацией (рис. 1).

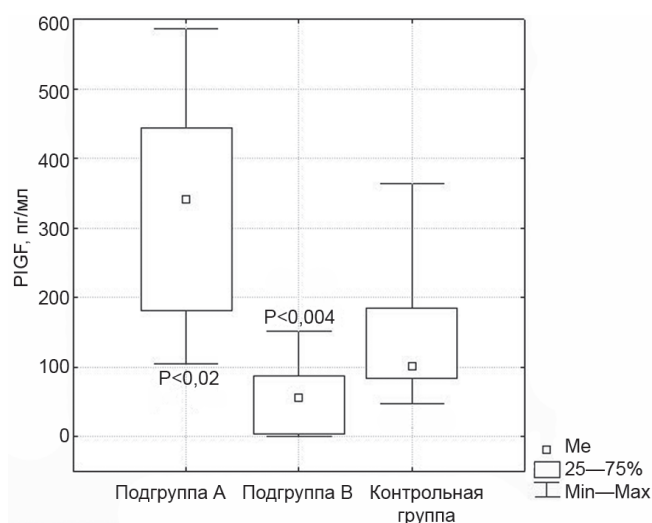


Рис. 1. Концентрация PIGF в сыворотке крови беременных в 28—34 нед гестации

Периферическое русло маточных артерий составляют спиральные артерии и межворсинчатое пространство, которые обуславливают неполноценную плацентацию, высокорезистентный кровоток [16]. Так, доплерометрическая оценка маточно-плацентарной гемодинамики в 28—34 нед гестации в основной группе выявила нарушение кровотока Ia степени (ИР одной или обеих маточных артерий выше 95% для данного гестационного срока) у 15 (35,7%) пациенток, в контрольной — у 2 (6,5%) беременных ($\chi^2=51,7$, $P < 0,000001$). У 18 (42,9%) женщин основной группы нарушения маточно-плацентарного кровотока не зарегистрированы, но это не гарантировало отсутствие плацентарной дисфункции. У 9 (21,4%) пациенток основной группы в 28—34 нед гестации выявлено нарушение маточно-плацентарного кровотока II и III степени (одновременное увеличение ИР одной или обеих маточных артерий и артерии пуповины выше 95% для данного гестационного срока либо нулевой диастолический или реверсный кровоток в артерии пуповины). Следует отметить, что нарушения маточно-плацентарного кровотока II—III степени встречались только в подгруппе В основной группы и были ассоциированы с тромбозами и инфарктами сосудов ворсин плаценты (9,4% случаев) и патологией пуповины: оболочечное прикрепление пуповины (2,4%), абсолютно короткая пуповина (2,4%), гипоплазия вартонова студ-

ня (2,4%), истинный узел пуповины (2,4%), единственная артерия пуповины (2,4%).

Патологические значения двухмерных (2D) доплеровских индексов артерий пуповины начинают регистрироваться при поражении более 70% плацентарных сосудов и отражают только декомпенсацию функционального состояния последа с нарушением фетальной гемодинамики, требуя обычно выполнения экстренного досрочного родоразрешения в интересах плода [17]. Кроме того, 2D ультразвуковое исследование плаценты с доплерометрией маточно-плацентарного кровотока не позволяет выявить гипопластические изменения плаценты и раннее нарушение развития плацентарной васкуляризации, что ассоциировано с недостаточным ростом плода [18]. Возможность детализировать характер и выраженность морфофункциональных изменений в плаценте появилась благодаря 3D доплеровскому исследованию кровотока [7, 16—20]. Современные исследования не дают четкого представления о диагностической ценности 3D доплеровского картирования плаценты

в прогнозировании развития плацентарной недостаточности и задержки роста плода.

Исследования группы авторов, использовавших трехмерную микрокомпьютерную томографию, выявили у беременных с задержкой роста плода почти 3-кратное снижение объема плацентарных сосудов (по сравнению с физиологически развивающейся беременностью), с чем связали дефицит кислорода в области плацентации [21]. Выполненное 3D энергетическое доплеровское исследование плацентарного кровотока в основной группе позволило обнаружить 2 варианта васкуляризации плаценты при задержке роста плода: нормоваскуляризация, характерная для подгруппы А (рис. 2, а), и гиповаскуляризация — в подгруппе В (рис. 2, б).

Нормоваскуляризация плаценты характеризовалась значениями VI и VFI, которые не отличались от таковых в группе контроля. Особенностью плацентарной гиповаскуляризации было снижение на 30% и более значений VI и VFI в сравнении с таковым в контроле (табл. 1). Сравнительный анализ индексов объемного

Таблица 1

Объемный плацентарный кровоток у беременных в 28—34 нед гестации (Me [25%; 75%])

Зоны плаценты	Параметры объемного плацентарного кровотока					
	VI, %			VFI, %		
	основная группа		контрольная группа	основная группа		контрольная группа
подгруппа А	подгруппа В	подгруппа А		подгруппа В		
Материнская часть плаценты						
Центральная	23,5 [18,9; 43,2]	8,6 [2,5; 14,8]**	32,0 [17,0; 40,2]	12,9 [10,6; 26,2]	4,4 [0,9; 7,3]**	14,6 [8,9; 23,1]
Парацентральные	24,4 [15,4; 28,6]	7,4 [3,1; 21,9]**	21,2 [12,3; 35,4]	12,6 [8,6; 15,8]	3,9 [1,3; 10,8]*	12,1 [6,3; 18,1]
Краевые	9,2 [4,8; 24,6]	6,2 [2,8; 18,0]**	21,6 [7,3; 33,1]	4,3 [2,1; 15,5]	2,6 [1,3; 9,1]**	11,1 [3,8; 16,1]
Плодовая часть плаценты						
Центральная	12,3 [7,4; 17,9]	8,8 [7,6; 16,9]	14,8 [10,5; 20,2]	5,9 [3,6; 7,9]	4,2 [3,0; 8,6]	6,8 [4,6; 9,0]
Парацентральные	12,2 [6,7; 19,5]	8,1 [5,6; 10,2]***	14,2 [10,4; 18,1]	5,2 [2,9; 8,6]	3,5 [2,1; 4,7]***	5,8 [4,4; 8,4]
Краевые	12,3 [5,0; 14,3]	7,6 [4,6; 10,3]	9,9 [6,3; 16,5]	4,4 [2,4; 6,3]	3,6 [1,9; 5,0]	3,9 [2,5; 7,6]

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001 (U-критерий).

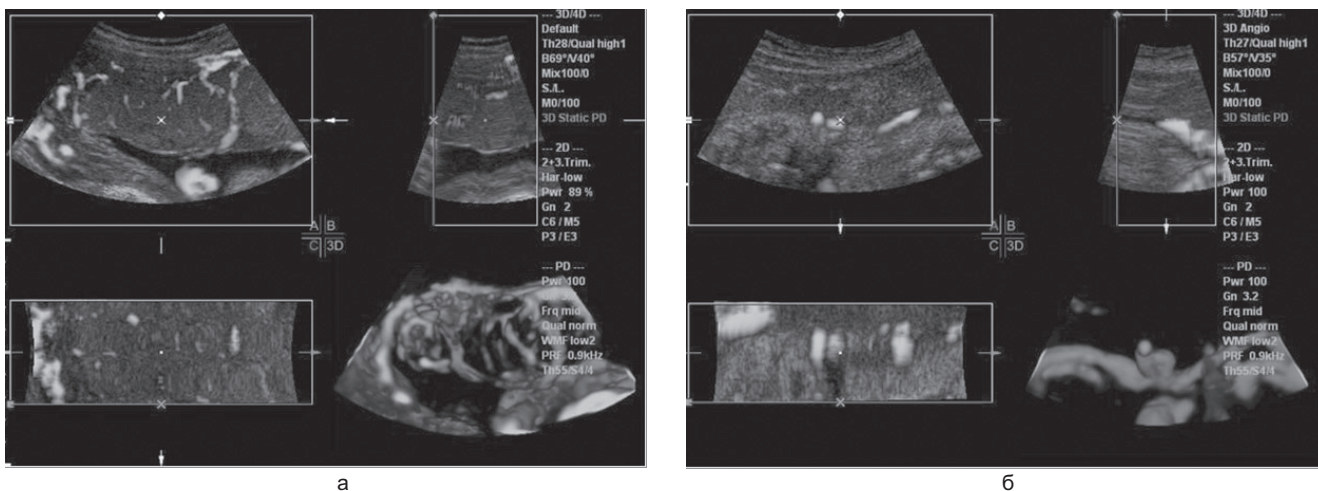


Рис. 2. 3D энергетическая доплеровская реконструкция кровотока в центральной зоне плаценты при задержке роста плода: а — с плацентарной нормоваскуляризацией; б — с плацентарной гиповаскуляризацией

кровотока в различных зонах плаценты в 28—34 нед беременности свидетельствовал о сформировавшемся вертикальном и горизонтальном гетероморфизме плацентарного кровотока. Оказалось, что в контрольной группе различные зоны плаценты кровоснабжались неодинаково: в материнской части плаценты центральная зона отличалась более выраженной васкуляризацией в сравнении с парацентральной и краевыми зонами. Аналогичная закономерность сохранялась в основной группе, свидетельствуя, что центральная зона плаценты является наиболее важной областью в функциональном и метаболическом отношении. В 28—34 нед беременности в подгруппе А наблюдалась тенденция к снижению значений VI и VFI только в краевых зонах материнской части плаценты на 59% по сравнению с таковыми в контроле ($P>0,05$). Подгруппа В характеризовалась достоверной гиповаскуляризацией всей материнской части плаценты со снижением значений VI и VFI на 71%. Центральная и парацентральные зоны плодовой части плаценты также имели тенденцию к снижению VI и VFI на 40% в сравнении с контрольными показателями.

В контрольной группе значения индексов объемного кровотока в плодовой части плаценты практически не изменялись в направлении к периферическим зонам, а в краевых зонах снижались на 33%. Напротив, в плодовой части плаценты в основной группе беременных отсутствовал горизонтальный гетероморфизм (значения индексов объемного кровотока практически не изменялись в разных зонах плаценты).

В основной группе не отмечено достоверных различий в значениях FI центральной, парацентральной и краевых зон материнской и плодовой частей плаценты в сравнении с таковыми в контроле. Однако в подгруппе А в парацентральной и краевых зонах материнской части плаценты отмечена тенденция к снижению значения FI на 19% (48,5 [43,4; 57,9]), тогда как в подгруппе В в этих же зонах выявлялась тенденция к возрастанию значения FI на 24% (45,8 [37,1; 55,2]) по отношению к центральным зонам ($P>0,05$). Учитывая, что FI характеризует объем крови, транспортируемый в момент исследования в массиве ткани, можно предполагать, что тенденция к снижению показателя на фоне нормативных значений VI в материнской части плаценты в подгруппе А отражает наличие застойных явлений кровотока в области материнского ложа плаценты. Напротив, разнонаправленный характер изменений VI и FI материнской части плаценты в подгруппе В может быть признаком увеличения интенсивности кровотока как компенсатор-

ная реакция на развивающуюся плацентарную недостаточность.

Выявлена положительная корреляционная зависимость показателей объемного кровотока между материнской и плодовой частями плаценты в подгруппе А, свидетельствующая об однонаправленном увеличении интенсивности кровотока в материнской и плодовой части плаценты (табл. 2). В то же время в подгруппе В не установлено корреляционных взаимосвязей между параметрами объемного кровотока материнской и плодовой частей плаценты. В этой ситуации возрастание интенсивности кровотока в материнской части не влечет за собой идентичного изменения кровотока в плодовой части плаценты, что препятствует эффективности использования лекарственной терапии при лечении гипотрофии плода у беременных.

У новорожденных в основной группе пациенток наблюдали перинатальное гипоксически-ишемическое поражение центральной нервной системы (88,1%) с преобладанием церебральной депрессии (54,8%), недоношенность (38,1%), неонатальную желтуху (14,3%), экстремально низкую массу тела с респираторным дистресс-синдромом I типа (9,5%). Признаки инфекционного поражения у новорожденных отмечали в 4 (9,5%) случаях (инфекция, специфичная для перинатального периода, врожденный везикуллопустулез).

В основной группе операцию кесарева сечения выполнили у 83,4% женщин, досрочное оперативное родоразрешение — у 40,5%, роды через естественные родовые пути — у 16,7%.

При патоморфологическом исследовании последа в основной группе в 2,7 раза чаще встречался базальный децидуит. Компенсаторные изменения в плаценте наблюдались в 3,7 раза реже по сравнению с таковыми в контроле (табл. 3).

В подгруппе А основной группы достоверно преобладало диссоциированное созревание ворсин плаценты, тогда как в подгруппе В имело место увеличение частоты случаев гипоплазии плаценты. Воспалительные изменения плаценты (интервиллезит, виллузит), пуповины (фуникулит, эндоваскулит сосудов пуповины) и плодных оболочек (париетальный децидуит, мембранит) выявляли в 6,1 раза чаще в подгруппе А, в подгруппе В в 2,1 раза чаще встречались псевдоинфаркты и компенсаторные изменения плаценты.

Таким образом, на основании оценки параметров объемного плацентарного кровотока, по данным 3D энергетического доплеровского картирования, и уровня PIGF в крови у беременных выявлено 2 варианта течения СЗРП при плацентарной недостаточности.

Таблица 2

Показатели корреляционных связей между параметрами объемного кровотока материнской и плодовой части плаценты в исследуемых группах в 28—34 нед беременности

Зоны плаценты	Коэффициент корреляции VI			Коэффициент корреляции VFI		
	основная группа		контрольная группа	основная группа		контрольная группа
	подгруппа А	подгруппа В		подгруппа А	подгруппа В	
Центральная	$r=0,9^*$	$r=-0,2$	$r=0,6^{***}$	$r=0,8^*$	$r=-0,2$	$r=0,4^*$
Парацентральные	$r=0,7^{**}$	$r=-0,1$	$r=0,5^{***}$	$r=0,5$	$r=-0,2$	$r=0,4^{**}$
Краевые	$r=0,9^{***}$	$r=0,4$	$r=0,4^{**}$	$r=0,8^{**}$	$r=0,3$	$r=0,3^*$

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$ (U-критерий).

Особенности гистологического строения последа в исследуемых группах

Гистологическое строение последа	Основная группа		Контрольная группа
	подгруппа А	подгруппа В	
Диссоциированное созревание плаценты	4 (33,3%)*	6 (20,0%)	3 (9,7%)
Гипоплазия плаценты	5 (41,7%)	16 (53,3%)*	0
Базальный децидуит	5 (41,7%)*	8 (26,7%)*	4 (12,9%)
Интервиллезит, виллузит	4 (33,3%)	1 (3,3%)**	1 (3,2%)
Фуникулит, эндовакулит сосудов пуповины	2 (16,7%)	1 (3,3%)**	0
Париетальный децидуит, мембранит	4 (33,3%)	3 (10,0%)**	6 (19,4%)
Псевдоинфаркты плаценты	2 (16,7%)	10 (33,3%)**	0
Компенсаторные изменения в плаценте	2 (16,7%)*	11 (36,7%)*	18 (58,1%)
Интервиллезные тромбы	0	3 (10,0%)	0
Отсутствие изменений в последе	1 (8,3%)	2 (6,7%)*	7 (22,6%)

*Достоверность различий показателей в сравнении с таковыми в контрольной группе, $P < 0,05$ (критерий χ^2).

**Достоверность различий показателей в подгруппе А в сравнении с таковыми в подгруппе В, $P < 0,05$ (критерий χ^2).

СЗРП с плацентарной нормоваскуляризацией характеризуется высоким уровнем PIGF (более 195,9 пг/мл), нормальными значениями индексов васкуляризации в материнской и плодовой частях плаценты, застойными явлениями в области материнского ложа плаценты (по данным FI) и преобладанием диссоциированного созревания плаценты. Сохранение однонаправленности объемного кровотока в материнской и плодовой частях плаценты предусматривает возможность проведения эффективной терапии задержки роста плода низкомолекулярными гепаринами и антигипоксантами.

СЗРП с плацентарной гиповаскуляризацией характеризуется сниженным уровнем PIGF (менее 80,3 пг/мл), низкими значениями индексов васкуляризации в материнской и плодовой частях плаценты, гипоплазией плаценты с наличием компенсаторных изменений и псевдоинфарктов. Выраженные нарушения объемного кровотока и его разнонаправленность в материнской и плодовой частях плаценты определяют необходимость отказа от медикаментозной терапии задержки роста плода и выбор досрочного родоразрешения беременной с последующим выхаживанием новорожденного и его реабилитацией в условиях неонатологического отделения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pulver L. S., Guest-Warnick G., Stoddard G. J., et al. // *Pediatrics*.— 2009.— Vol. 123, № 6.— P. 1072—1077.
2. Нагаева Е. В. // *Педиатрия*.— 2009.— Т. 88, № 5.— С. 140—146.
3. Mericq V. // *Pediatr. Endocrinol. Rev.*— 2006.— Vol. 4, № 1.— P. 3—14.
4. Оразмурадов А. А., Апресян С. В., Радзинский В. Е. *Плацентарная недостаточность: реалии и перспективы*.— М., 2009.
5. Алтынник Н. А., Бадигова Е. А., Блинов А. Ю. и др. *Ультразвуковая фетометрия: справочные таблицы и номограммы* / Под ред. М. В. Медведева.— М., 2010.
6. Стрижаков А. Н., Бунин А. Т., Медведев М. В., Григорян Г. А. // *Акушерство и гинекология*.— 1990.— № 7.— С. 12—15.
7. Краснополянский В. И., Логутова Л. С., Туманова В. А. и др. *Формирование и патология плаценты* / Под ред. В. И. Краснополянского.— М., 2007.
8. Паллади Г., Илиади-Тулбуре К., Табуйка У. // *Акушерство и гинекология*.— 2011.— № 5.— С. 45—48.
9. Blajic J., Djakovic A., Ivanisevic M., et al. // *Gynaecol. Perinatol.*— 2010.— Vol. 19, № 1.— P. 10—15.
10. Osol G., Celia G., Gokina N., et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*— 2008.— Vol. 294.— P. 1381—1387.

11. Torry D. S., Mukherjea D., Arroyo J., Torry R. J. // *Reprod. Sci.*— 2003.— Vol. 10, № 4.— P. 178—188.
12. Odorisio T., Schietroma C., Zaccaria M. L., et al. // *J. Cell Sci.*— 2002.— Vol. 115.— P. 2559—2567.
13. Соколов Д. И. // *Журн. акушерства и женских болезней*.— 2007.— Т. 56, вып. 3.— С. 129—133.
14. Сидорова И. С. // *Акушерство и гинекология*.— 2009.— № 3.— С. 38—41.
15. Орлов А. В. // *Материалы VII Всерос. форума «Мать и дитя»*.— М., 2005.— С. 189—190.
16. Bahlmann F. *Маточно-плацентарное кровообращение // Ультразвуковая диагностика в акушерстве и гинекологии* / Под ред. А. И. Гуса.— М., 2011.— Т. 1: Акушерство.— С. 535—540.
17. Новикова С. В., Краснополянский В. И., Логутова Л. С. и др. // *Рос. вестн. акушера-гинеколога*.— 2005.— № 5.— С. 39—43.
18. Merce L. T., Barco M. J., Bau S., et al. // *Croat. Med. J.*— 2005.— Vol. 46, № 5.— P. 765—771.
19. Тутченко Л. И., Пырскова Ж. Ю., Чечнева М. А., Тутченко И. П. // *SonoAce-Ultrasound*.— 2007.— № 16.— С. 22—27.
20. Фомина М. П., Дивакова Т. С. // *Охрана материнства и детства*.— 2011.— № 1(17).— С. 31—33.
21. Langheinrich A. C., Vorman S., Seidenstucker J., et al. // *Placenta*.— 2008.— Vol. 29, № 11.— P. 937—941.

Поступила 15.03.12.

RETARDATION OF FETUS GROWTH IN PREGNANT WOMEN

M. P. Fomina, T. S. Divakova

Objective. Detection of pathogenic variants of the fetus growth retardation syndrome (FGRS) basing on studying the volume placental blood flow values by the findings of three-dimension energy Doppler mapping and the levels of placental growth factor (PIGF) in the pregnant woman's blood was the purpose of the study.

Materials and methods. The basic group consisted of 42 pregnant women demonstrating fetus growth retardation, the control group was formed of 31 women their pregnancy course being physiological. Three-dimension energy Doppler mapping of the placental blood flow was performed at 28—34 weeks of pregnancy and the blood PIGF levels were measured.

Results. The volume placental blood flow values and the blood PIGF levels analysis detected two variants of FGRS in pregnant women having placental failure – fetus growth retardation combined with placenta normal vascularization and fetus growth retardation combined with placenta hypovascularization.

Conclusion. Detection of two variants of FGRS course allows differentiate the pregnancy leading tactics (medicamentous treatment, preterm labor) when it is complicated by placental failure and the intrauterine growth retardation.

Key words: placental failure, fetus growth retardation, placental blood flow.

Адрес для корреспонденции:

Фомина Марина Петровна.
Витебский государственный медицинский университет.
210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27; сп. тел. (8-0212) 27-23-51.



В. В. ХРУСТАЛЕВ, Е. В. БАРКОВСКИЙ,
В. Л. КОЛОДКИНА

ВЕРОЯТНОСТЬ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ НАИБОЛЕЕ АНТИГЕННЫХ ОБЛАСТЕЙ ДИФТЕРИЙНОГО ТОКСИНА В СОСТАВЕ КОРОТКИХ ПЕПТИДОВ

Белорусский государственный медицинский университет,
РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Цель исследования. Оценить вероятность воспроизведения вторичной структуры наиболее антигенных областей дифтерийного токсина в составе коротких синтетических пептидов.

Материал и методы. Сведения о трехмерном строении свободного дифтерийного токсина и дифтерийного токсина, связанного с рецептором из базы данных PDB; оригинальный алгоритм SSPT.

Результаты. Установлено, что единственной антигенной областью, вторичная структура которой с высокой долей вероятности будет одинаковой в синтетическом пептиде и полноразмерном белке, является бета-шпилька длиной 23 аминокислотных остатка из рецепторосвязывающего домена.

Заключение. Наиболее перспективным для создания синтетической вакцины участком дифтерийного токсина является фрагмент его рецепторосвязывающего домена (508—530: SIGVLGYQKTVDHTKVNKLSLF) с сильными антигенными свойствами, наименьшим уровнем мутабельности и воспроизводимой вторичной структурой.

Ключевые слова: дифтерийный токсин, вторичная структура, синтетическая вакцина, гидрофобные контакты, ионные взаимодействия.

Создание синтетических вакцин считается одним из перспективных направлений вакцинопрофилактики. Иммунизация с помощью короткого антигенного пептида, соответствующего именно той области полноразмерного белка, антитела к которой обладают нейтрализующим или цитотоксическим действием, должна быть более эффективной, чем иммунизация с помощью самого белка или аттенуированного штамма возбудителя [1]. Кроме того, если речь идет о токсинах, синтетическая вакцина должна быть более безопасной, чем инактивированная. Инактивация формалином может приводить не только к утрате токсинной активности, но и к изменению его антигенных свойств. Несмотря на многообещающую концепцию и автоматизацию синтеза пептидов, процесс создания синтетической вакцины далеко не всегда заканчивается успехом. Одной из причин отсутствия перекрестных реакций между антителами к синтетическим пептидам и полноразмерными белками возбудителей является высокая частота мутаций в генах, кодирующих последние [1].

Ранее был предложен оригинальный метод определения уровня мутабельности антигенных детерми-

нант белков вирусов и бактерий [1]. С помощью этого метода можно «выбраковать» те антигенные детерминанты, которые подвержены частым аминокислотным заменам по причине снижения частот использования синонимичных сайтов для нуклеотидных замен по направлению мутационного давления в участках генов, кодирующих их. С помощью этого метода было выяснено, что антигенная область дифтерийного токсина № 4 является менее мутабельной, чем остальные три [1, 2]. Сами же четыре антигенные области дифтерийного токсина были выделены с помощью вероятностных алгоритмов (BepiPred 1.0; DiscoTope 1.2; Epitopia; Epces; VVK Unique Antigen), распознающих наиболее антигенные участки белков [2]. Следует отметить, что наиболее антигенными являются участки белков, обогащенные гидрофильными аминокислотными остатками, пролином и глицином [3]. Как последовательности, состоящие из гидрофильных аминокислот, так и последовательности, содержащие пролин и глицин, чаще всего лишены вторичной структуры [4]. Именно поэтому большинство высоко антигенных пептидов принимают конформацию, отличную от таковой, присущей соответствующим им областям в белке.

Дифтерийный токсин состоит из трех структурно-функциональных доменов. Рецепторосвязывающий домен (бета-структурный) связывается с предшественником фактора роста, подобного гепаринсвязывающему эпидермальному фактору роста (HBEGF: heparin-binding epidermal-growth-factor-like) [5]. Предшественник HBEGF связан с поверхностью клеточной мембраны. Трансмембранный (альфа-спиральный) домен необходим для проникновения каталитического домена в цитоплазму клетки. Конформация альфа-спирального домена изменяется вследствие закисления среды внутри эндосомы. Дисульфидная связь, с помощью которой каталитический домен связан с альфа-спиральным, разрывается, альфа-спираль внедряется в мембрану — каталитический домен проникает в цитоплазму. Каталитический домен вызывает остановку синтеза белка, что приводит к гибели клетки [5].

Антитела к определенным эпитопам бета-структурного домена должны препятствовать связыванию токсина с клеточным рецептором. Антитела к определенным эпитопам альфа-спирального домена должны нарушать процесс структурной перестройки последнего при закислении среды в эндосоме, следовательно, предотвращать проникновение каталитического домена внутрь цитоплазмы. Антитела к определенным эпитопам каталитического домена должны нарушать его взаимодействие с субстратом (с НАД⁺ и фактором элонгации трансляции 2) в том случае, если комплекс «антиген—антитело» не будет разрушен в эндосоме и в неизменном виде проникнет в цитоплазму. В состав антигенной области № 1 действительно входят аминокислотные остатки, взаимодействующие с НАД⁺ [6]. Нельзя исключить, что антитела к некоторым эпито-

пам каталитического домена могут препятствовать его проникновению в цитоплазму.

В принципе, все перечисленные выше типы антител должны обладать нейтрализующей активностью. Однако далеко не каждый антигенный эпитоп можно «воспроизвести» в виде короткого пептида. Дело в том, что структура отдельных участков белков формируется в результате как ближних, так и дальних взаимодействий между аминокислотными остатками [4]. В коротком пептиде, соответствующем антигенному участку белка, сохраняются только ближние, но не дальние взаимодействия. Оценить вклад ближних и дальних взаимодействий между аминокислотными остатками в формирование структуры отдельных фрагментов белка можно с помощью вероятностных методов предсказания вторичной структуры.

Целью настоящего исследования явилось определение вероятности воспроизведения вторичной структуры наиболее антигенных участков дифтерийного токсина в составе коротких пептидов с помощью оригинального алгоритма SSPT (Secondary Structure Predictability Tester), доступного через сайт www.barkovsky.hotmail.ru.

Материал и методы

В качестве материала для исследования были использованы сведения о трехмерной структуре свободного дифтерийного токсина (идентификатор в базе данных PDB: 1SGK) и дифтерийного токсина в комплексе с фрагментом его рецептора (идентификатор в базе данных PDB: 1XDT).

Элементы вторичной структуры дифтерийного токсина были протестированы на предмет возможности их предсказания с помощью оригинального алгоритма SSPT (Secondary Structure Predictability Tester). Данный алгоритм использует в качестве исходного материала файл PDB и аминокислотную последовательность соответствующего белка. SSPT предсказывает вторичную структуру белка по аминокислотной последовательности и сравнивает ее со вторичной структурой, определенной с помощью рентгеноструктурного анализа (эта информация извлекается из файла PDB). Предсказание осуществляется двумя принципиально разными методами. Первый метод работает на основе расчета средней вероятности нахождения каждого аминокислотного остатка, каждого дипептида, трипептида, пар аминокислот в рамках « $i - i+2$ », « $i - i+3$ », « $i - i+4$ » в составе альфа-спирали, бета-тяжа и неструктурированного участка. Все 6 вероятностных шкал, используемых в этом методе, были получены в результате обработки информации о вторичной структуре бактериальных белков из базы данных PDB (всего 615 файлов, содержащих сведения о структурном состоянии 150 782 аминокислотных остатков). Поскольку симметричное мутационное давление оказывает существенное влияние на аминокислотный состав белков [7], были использованы частичные протеомы четырех видов бактерий с GC-богатыми геномами (*Mycobacterium tuberculosis*; *Rhodococcus jostii*; *Xanthomonas campestris* и *Streptomyces coelicolor*), четырех видов бактерий

с GC-бедными геномами (*Borrelia burgdorferi*; *Clostridium perfringens*; *Francisella tularensis* и *Staphylococcus aureus*) и четырех видов бактерий с геномами, GC-насыщенность которых является средней (*Yersinia pestis*; *Porphyromonas gingivalis*; *Shigella flexneri*; *Synechococcus elongatus*).

Второй метод основан на вероятностной шкале для 32 возможных комбинаций гидрофобных и гидрофильных аминокислотных остатков в пентапептиде. Аминокислотные остатки были классифицированы на гидрофобные и гидрофильные согласно комбинированной шкале «Eisenberg» [8].

Результатом работы SSPT является расчет процента аминокислотных остатков в каждом элементе вторичной структуры, нахождение которых в данном типе вторичной структуры можно предсказать. В том случае, если такой процент высок, данный элемент вторичной структуры должен формироваться не только в полноразмерном белке, но и в синтетическом пептиде. Если же элемент вторичной структуры плохо предсказывается SSPT, вероятность того, что он «воспроизведется» в пептиде, является низкой.

SSPT способен определить не только наиболее вероятное структурное состояние для данного аминокислотного остатка, но и оценить вероятность его нахождения на N- и C-конце альфа-спирали и бета-тяжа как методом, основанным на особенностях каждого из 20 типов аминокислотных остатков, так и методом, основанным на особенностях каждого из 32 типов пентапептидов, состоящих из гидрофильных и гидрофобных аминокислотных остатков.

Для оценки возможности образования гидрофобных контактов, ионных взаимодействий и водородных связей как между различными аминокислотными остатками дифтерийного токсина, так и между аминокислотными остатками дифтерийного токсина и фрагмента его рецептора был использован алгоритм Protein Interactions Calculator (PIC) [9], доступный на сайте <http://pic.mbu.iisc.ernet.in>. Возможность формирования перечисленных выше взаимодействий оценивали путем расчета расстояний между аминокислотными остатками, способными в них участвовать, на основе анализа файлов из базы данных PDB (www.pdb.org).

Результаты и обсуждение

Наиболее антигенная область № 1 расположена в каталитическом домене [1]. Практически вся она лишена элементов вторичной структуры. Конформация данной антигенной области стабилизируется исключительно за счет взаимодействий с другими частями каталитического домена. Синтетический пептид, соответствующий антигенной области № 1, с очень высокой долей вероятности не будет иметь такую же конформацию, как участок полноразмерного белка, в связи с чем создание такого пептида является нецелесообразным. Результаты, полученные с помощью биоинформатических методов, зачастую могут предотвратить ненужные затраты времени, усилий и материальных средств.

Наиболее антигенная область № 2 представляет собой 2 альфа-спирали, расположенные друг за дру-

гом в первичной последовательности белка (от 206 до 221 и от 224 до 232 аминокислотных остатков) [1]. Теоретически пептид, соответствующий по аминокислотной последовательности данной области дифтерийного токсина, мог бы сохранить альфа-спиральную конформацию, а значит и иммуногенные свойства, присущие фрагменту полноразмерного белка. Однако, по данным SSPT, первая альфа-спираль предсказывается только на 43,75% (таблица). Только 5 С-концевых аминокислотных остатков данной альфа-спирали и 2 аминокислотных остатка на N-конце обладают спиралеформирующим потенциалом. Продолжительная область этой спирали (210—216: RDKTKTK) не может быть предсказана как часть альфа-спирали ни одним из двух методов, использующихся в SSPT.

Антигенная альфа-спираль 206—221 «лежит» (рис. 1) на 2 других альфа-спиралях (326—346 и 359—376). Действительно, по данным PCI, аминокислотные остатки лизина и аргинина из того участка антигенной альфа-спирали, который не предсказывается алгоритмом SSPT, могут быть связаны за счет ионных взаимодействий с остатками глутаминовой кислоты, находящимися в составе 2 других альфа-спиралей. Кроме того, между этими спиралями возможны гидрофобные контакты. Надо отметить, что спираль 359—376 предсказывается алгоритмом SSPT на 83,33%, причем практически полностью с помощью метода, основанного на распознавании характерных для альфа-спиралей чередований гидрофобных и гидрофильных аминокислотных остатков (см. таблицу).

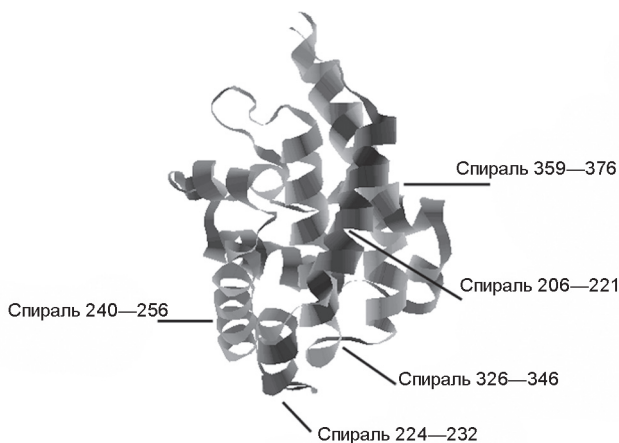


Рис. 1. Структура трансмембранного домена дифтерийного токсина (1SGK)

По всей вероятности, пептид, соответствующий аминокислотной последовательности спирали 359—376, сохранил бы свою вторичную структуру, однако, данная спираль не обладает сильными антигенными свойствами [2].

Более короткая альфа-спираль 224—232 из антигенной области № 2 предсказывается на 44,44% (см. таблицу). Судя по результатам PCI, альфа-спиральная конформация данного фрагмента белка поддерживается за счет ионных и гидрофобных контактов со спиралью 240—256, которая предсказывается по данным SSPT на 100% (в основном с помощью метода, основанного на вероятности включения аминокислотных остатков в альфа-спирали). Это означает, что антигенная область № 2 из альфа-спирального домена дифтерийного токсина не подходит для создания синтетической вакцины, поскольку вероятность сохранения пептидом иммуногенных свойств полноразмерного белка крайне мала.

Не следует считать, что при взаимодействии 2 альфа-спиралей одна из них всегда вызывает альфа-спиральную конформацию другой. Зачастую аминокислотные остатки из 2 плохо предсказываемых альфа-спиралей взаимодействуют друг с другом, обуславливая формирование собственной вторичной структуры. Например, спираль 326—346, с которой взаимодействуют обе альфа-спирали из антигенного региона № 2, предсказывается только на 66,67%. С другой стороны, 2 хорошо предсказываемые спирали также могут взаимодействовать друг с другом. Алгоритм PCI способен подтвердить возможность тех или иных видов дальних взаимодействий, а алгоритм SSPT оценивает значимость этих дальних взаимодействий для формирования вторичной структуры.

Антигенная область № 3 включает продолжительный бесструктурный участок и бета-тяж 449—452, который предсказывается алгоритмом SSPT на 100%, но является слишком коротким для рассмотрения его в качестве кандидата для включения в состав синтетического пептида.

Антигенная область № 4 включает в себя короткий бета-тяж 508—512 и бесструктурные участки до и после него [1]. Упомянутый бета-тяж связан водородными связями с бета-тяжем 526—530, расположенным непосредственно за бесструктурным фрагментом, включенным в состав антигенной области № 4. Бесструктурный фрагмент 513—525 представляет собой выступающую часть бета-структурного домена (рис. 2, а). Возможности влияния дальних взаимо-

Результаты предсказания алгоритмом SSPT 5 альфа-спиралей из трансмембранного домена дифтерийного токсина

Границы альфа-спиралей	Аминокислотные остатки			
	предсказанные хотя бы одним из методов, %	предсказанные обоими методами, %	предсказанные методом, основанным на вероятностных шкалах для аминокислот, %	предсказанные методом, основанным на вероятностной шкале для пентапептидов, состоящих из гидрофобных и гидрофильных аминокислот, %
206—221	43,75	12,50	25,00	31,25
224—232	44,44	0,00	11,11	33,33
240—256	100,00	52,94	94,12	58,82
359—376	83,33	5,56	5,56	83,33
326—346	66,67	38,10	57,14	47,62

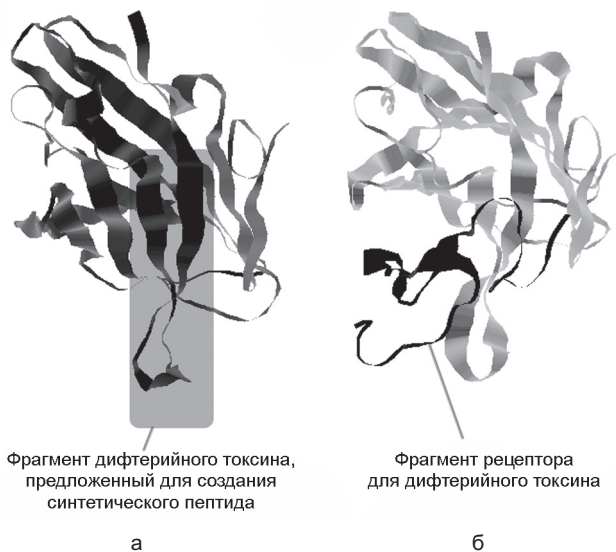


Рис. 2. Структура рецепторсвязывающего домена свободного (а) и связанного с фрагментом рецептора (б) дифтерийного токсина (1SGK и 1XDT соответственно)

действий на его конформацию минимальны. Теоретически антигенный бесструктурный фрагмент 513—525 можно смоделировать в составе пептида, концы которого соответствуют бета-тяжам 508—512 и 526—530 [2]. В случае с бесструктурным фрагментом из антигенной области № 3 такая возможность отсутствует, так как бета-тяжи, расположенные на концах этого фрагмента, не связаны друг с другом.

Три аминокислотных остатка, расположенные в С-концевой области бета-тяжа 508—512, предсказываются как входящие в состав бета-структуры обоими методами, включенными в алгоритм SSPT. Такая же ситуация характерна и для бета-тяжа 526—530, образующего с описанным выше бета-шпильку, то есть оба бета-тяжа предсказываются на 60% обоими методами. Второй остаток в бета-тяже 508—512 имеет большую вероятность быть первым в бета-структуре. Вероятные «кэпы» [10] для бета-тяжа 526—530 соответствуют первому (по свойствам аминокислот) и последнему остатку (по характеру чередования гидрофобных и гидрофильных аминокислот).

Необходимо отметить, что бесструктурный фрагмент 513—525 дифтерийного токсина из антигенной области № 4 непосредственно участвует в связывании специфического рецептора. Согласно результатам PCI, полученным на основании расчетов расстояний между атомами в комплексе дифтерийного токсина с рецептором, межмолекулярное связывание происходит и непосредственно с бета-тяжами 508—512 (гидрофобный контакт — Leu512) и 526—530 (водородная связь — Lys526), и с бета-тяжами, образующимися из бесструктурной области (водородная связь — Gln515, гидрофобные контакты — Val518 и Val523, ионные взаимодействия — Lys516 и Asp519). Дополнительные бета-тяжи предсказываются на 75% и 50% соответственно, но исключительно с помощью метода, основанного на вероятности включения аминокислотных

остатков в бета-структуру. Действительно, эти тяжжи (QKTV и TKVN) содержат валин и треонин, но в целом являются достаточно гидрофильными, что нехарактерно для бета-структуры. Формируются они, по-видимому, за счет взаимодействия с рецептором.

Таким образом, исходя из данных, полученных с помощью алгоритмов SSPT и PIC, можно сделать вывод о том, что антитела, выработанные к синтетическому пептиду, соответствующему области дифтерийного токсина 508—530 (SIGVLGYQKTV DHTKVN SKLSLF), должны препятствовать связыванию полноразмерного токсина с рецептором. Результаты биоинформатических исследований указывают на то, что данный пептид является единственным кандидатом для проведения дальнейших экспериментальных исследований по созданию синтетической вакцины против дифтерийного токсина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Khrustalev V. V., Barkovsky E. V., Vasilevskaya A. E., et al. // *J. IOMICS*.— 2011.— Vol. 1.— P. 236—252.
2. Хрусталева В. В., Барковский Е. В., Колодкина В. Л., Игнатьев Г. М. // *Здравоохранение*.— 2011.— № 8.— С. 43—48.
3. Rubinsteyn N. D., Mayrose I., Halperin D., et al. // *Mol. Immunol.*— 2008.— Vol. 45.— P. 3477—3489.
4. Barkovsky E. V. // *Acta Biol. Med. Germ.*— 1982.— Vol. 41.— P. 751—758.
5. Louie G. V., Yang W., Bowman M. E., Choe S. // *Mol. Cell.*— 1997.— Vol. 1.— P. 67—78.
6. Bell C. E., Eisenberg D. // *Biochemistry*.— 1997.— Vol. 36.— P. 481—488.
7. Sueoka N. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.— 1988.— Vol. 85.— P. 2653—2657.
8. Eisenberg D., Schwarz E., Komaromy M., Wall R. // *J. Mol. Biol.*— 1984.— Vol. 179.— P. 125—142.
9. Tina K. G., Bhadra R., Srinivasan N. // *Nucleic Acids Research*.— 2007.— Vol. 35.— P. 473—476.
10. Aurora R., Rose G. D. // *Protein Science*.— 1998.— Vol. 7.— P. 21—38.

Поступила 10.07.12.

PROBABILITY OF DIPHTHERIA TOXIN ANTIGENIC REGIONS SECONDARY STRUCTURE REPRODUCTION IN SHORT PEPTIDES

V. V. Khrustalev, E. V. Barkovsky, V. L. Kolodkina

Objective. The purpose of the study was to estimate the probabilities of secondary structure elements formation in short synthetic peptides corresponding to the most antigenic regions of diphtheria toxin.

Materials and methods. PDB files containing information on 3D structure of the free diphtheria toxin and the toxin bound to its receptor; original SSPT algorithm.

Results. The only one antigenic region with reproducible secondary structure for both the synthetic peptide and the full size protein is a beta-hairpin from receptor-binding domain 23 amino acid residues in length.

Conclusion. The most suitable fragment for synthetic vaccine creation is a part of diphtheria toxin receptor-binding domain (508—530: SIGVLGYQKTV DHTKVN SKLSLF) having strong antigenic properties, the lowest mutability level and reproducible secondary structure.

Key words: diphtheria toxin, secondary structure, synthetic vaccine, hydrophobic contacts, ion interactions.

Адрес для корреспонденции:

Хрусталева Владислав Викторович.
Белорусский государственный медицинский университет.
220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83; сл. тел. (8-017) 272-52-95.

П. А. СЕМИЖОН, Е. П. СЧЕСЛЕНКО, Е. Г. ФОМИНА,
Т. В. ШКОЛИНА, А. Г. КРАСЬКО, К. К. МУКАНОВ,
А. С. ВЛАДЫКО

ПОЛУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО ПОЛИПЕПТИДА НУКЛЕОКАПСИДНОГО БЕЛКА ВИРУСА КРЫМСКО-КОНГО-ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Минздрава
Республики Беларусь, Национальный центр
биотехнологии Республики Казахстан

Цель исследования. Получить рекомбинантный полипептид, соответствующий фрагменту нуклеокапсидного белка вируса крымско-конго-геморрагической лихорадки (ККГЛ) путем экспрессии в прокариотической системе и оценить его специфичность.

Материал и методы. Использованы стандартные молекулярно-биологические, биохимические и иммунохимические методы: полимеразная цепная реакция, агарозный и полиакриламидный гель-электрофорез, аффинная металлохелатная хроматография, иммуноблоттинг.

Результаты. Получен высокоочищенный препарат рекомбинантного полипептида, представляющего собой антигензначимый фрагмент нуклеокапсидного белка вируса ККГЛ, способного связывать специфические антитела, находящиеся в сыворотке крови человека, который в дальнейшем может быть рассмотрен как потенциальный антигенный компонент иммуноферментных диагностических тест-систем.

Ключевые слова: вирус крымско-конго-геморрагической лихорадки, рекомбинантные полипептиды, экспрессия белка, иммуноблоттинг.

Крымско-конго-геморрагическая лихорадка (ККГЛ, среднеазиатская геморрагическая лихорадка) — вирусное природно-очаговое заболевание человека, характеризующееся острым началом, двухфазной лихорадкой, тяжелой интоксикацией, а также развитием в большинстве случаев резко выраженного геморрагического синдрома различной степени тяжести. Этиологическим агентом ККГЛ является одноцепочечный РНК-вирус, относящийся к экологической группе арбовирусов, род *Nairovirus*, семейство *Bunyaviridae*, переносчиком которого преимущественно являются иксодовые клещи рода *Hyalomma* (*H. marginatum*, *H. asiaticum* и *H. anatolicum*) [1—3]. Основным ареалом возбудителя ККГЛ являются страны Ближнего Востока, Африки, Азии и Восточной Европы [2, 4]. По данным ВОЗ, ежегодно природные очаги данной инфекции регистрируют на юге Украины, в Крыму, Казахстане, в республиках Средней Азии, Китае, Болгарии, Пакистане, Афганистане, Центральной, Восточной и Южной Африке (Конго, Кения, Уганда, Нигерия, Гвинея и др.). Несмотря на то что для Беларуси ККГЛ не является эндемичной, существует и постоянно растет вероятность завоза данной инфекции с территорий других государств. Это обусловлено, в первую очередь, увеличением интенсивности торгово-экономиче-

ской интеграции между странами (создание Таможенного союза), изменением социальных, экономических и климатических факторов, способствующих как увеличению заболеваемости в эндемичных районах, так и возникновению новых очагов распространения ККГЛ.

Обычный подход в диагностике ККГЛ сочетает в себе обнаружение вирусной РНК и/или антигенов — прямых маркеров инфекции, а также специфических антител IgM и IgG, которые выявляют в плазме (сыворотке) крови человека спустя 4—5 сут после появления первых симптомов заболевания [5]. Метод иммуноферментного анализа (ИФА) является наиболее распространенным для обнаружения антител к вирусу ККГЛ и, по имеющимся данным, является более чувствительным, чем применяемый ранее для этой цели метод иммунофлюоресценции [6, 7]. В качестве антигенов для ИФА-диагностики ККГЛ в настоящее время все больше используют рекомбинантные полипептиды, получаемые с помощью методов генетической инженерии, при этом основным является антиген, соответствующий области нуклеокапсидного белка (NP) вируса ККГЛ [8].

Целью настоящего исследования являлось получение рекомбинантного полипептида, соответствующего фрагменту нуклеокапсидного белка вируса ККГЛ, путем экспрессии в прокариотической системе и оценка его специфичности.

Материал и методы

Материалами исследования являлись: вирус ККГЛ, штаммы 22263 (Астрахань) и «Узбекистан», а также референс-сыворотки крови человека, содержащие специфические антитела к вирусу ККГЛ, которые получены из Института вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН (Москва).

Топологический анализ аминокислотной последовательности нуклеокапсидного белка вируса ККГЛ проводили с использованием авторской компьютерной программы wxGeneVee. Основой данной программы служили шкалы гидрофобности и гидрофильности, предложенные Т. Р. Hopp and K. R. Woods и J. Kyte and R. F. Doolittle. Критериями оценки являлись такие параметры, как растворимость, заряд, удаленность от NC-остова, наличие спиралей и сульфгидрильных остатков.

Выделение вирусной РНК. В качестве исходного материала для выделения РНК ККГЛ использовали вирусосодержащую культуральную жидкость. Выделение РНК осуществляли с помощью коммерческого набора реагентов «NucleoSpin RNA» (MACHERY-Nagel) согласно прилагаемой инструкции.

Олигонуклеотидными последовательностями для амплификации фрагмента ДНК, кодирующего антигензначимый участок NP белка вируса ККГЛ, были следующие:

ССНFrJC40f (прямой):
5'-СТТГААТСССГСАГГГААТТТGTCA-3';
ССНFrJC40r (обратный):
5'-СГГГАТССГТГТААТТТGTGCACC-3'.

Их заказали и искусственно синтезировали в ОДО «Праймтех» (Минск).

Постановка реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). Постановку реакции ОТ проводили с использованием набора реагентов «Реверта-L» (производство ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) согласно прилагаемой инструкции. Полученную комплементарную ДНК (кДНК) использовали для постановки ПЦР. Состав реакционной смеси: по 25 пмоль праймеров ССНFrJC40f, ССНFrJC40r, 5 мкл 10x Taq-буфера («Fermentas», Литва), 4 мкл 25 ммоль $MgCl_2$, 1 мкл дНТФ (10 ммоль каждого), 10 мкл ОТ-продукта (кДНК), 2,5 ед. Taq-полимеразы («Fermentas», Литва), деионизованная вода до конечного объема 50 мкл. Режим амплификации: 94°C — 2 мин; 94°C — 15 с, 55°C — 45 с, 72°C — 1 мин, количество циклов — 35.

Анализ фрагментов ДНК, синтезированных в ПЦР, проводили электрофорезом в 1,5% агарозном геле. Электрофорез вели при напряжении тока 10 В/см в трис-ацетатном буфере, pH 8,0, в течение 25—35 мин. Визуализацию ДНК осуществляли с помощью окрашивания геля бромистым этидием.

Лигирование фрагментов ДНК проводили в объеме 20 мкл при температуре 22°C в течение 1 ч. В качестве лигирующего фермента использовали T4 DNA Ligase («Fermentas», Литва) согласно прилагаемой инструкции.

Подготовку компетентной клеточной культуры, трансформацию клеток плазмидной ДНК, аффинную металлохеллатную хроматографию, электрофоретический анализ в полиакриламидном геле и иммуноблоттинг рекомбинантного полипептида проводили согласно методикам, описанным ранее [9].

Выделение рекомбинантной плазмидной ДНК осуществляли с использованием набора реагентов QIAprep Spin Miniprep Kit (Qiagen) согласно прилагаемой инструкции.

Результаты и обсуждение

Первоначально проводили топологический анализ аминокислотной последовательности нуклеокапсидного белка вируса ККГЛ, в результате чего выявили наличие 4 единично представленных по всей последовательности белка антигенных детерминант. Учитывая полученные результаты, а также данные литературы [10], для создания рекомбинантного полипептида выбрали последовательность протяженностью 105 аминокислотных оснований, которая включала 1 антигензначимый участок, расположенный в центре белковой молекулы.

Для синтеза ДНК-фрагмента, кодирующего соответствующую аминокислотную последовательность, подбирали пару олигонуклеотидов (праймеров), ограничивающих фрагмент с 656-го по 972-е нуклеотидное основание из области нуклеокапсидного белка вируса ККГЛ. В структуру праймеров дополнительно вводили сайты узнавания для специфических рестриктирующих эндонуклеаз EcoRI (GAATTC) и BamHI (GGATCC), необходимые для последующего клонирования фрагмента в полилинкер плазмидного вектора.

В результате постановки ОТ и последующей ПЦР на РНК-матрице синтезировали фрагмент ДНК размером 334 пары нуклеотидных оснований (п. о.) (рис. 1, а, е).

Оценку специфичности полученных ампликонов осуществляли методом рестрикционного анализа по уникальным сайтам узнавания для специфических рестриктаз. Из рис. 1 видно, что в результате гидролиза рестриктазой Stu I ДНК-фрагментов, синтезированных на матрицах «Узбекистан» и 22263/Астрахань, происходило расщепление на 2 специфических участка ДНК размерами 224 п. о. и 110 п. о. (см. рис. 1, в, ж) в то же время при гидролизе рестриктазой Hind III только последовательность ДНК-фрагмента штамма 22263/Астрахань давала специфическое расщепление на 2 участка ДНК размерами 216 п. о. и 118 п. о. (см. рис. 1, д). Полученные данные согласуются с данными теоретических расчетов и обусловлены наличием/отсутствием сайтов узнавания для соответствующих рестриктирующих эндонуклеаз в полученных ДНК-последовательностях, амплифицированных на РНК-матрицах, выделенных из различных штаммов вируса ККГЛ. В дальнейшем специфичность ДНК-фрагмента штамма «Узбекистан» дополнительно подтвердили методом прямого секвенирования в составе гибридной плазмиды (данные не приведены).

Для создания гибридного плазмидного вектора, способного обеспечить экспрессию рекомбинантного полипептида, ДНК-фрагмент вируса ККГЛ (полученный на РНК-матрице штамма «Узбекистан») и исходный вектор rJC40 [11] последовательно обработали рестриктирующими эндонуклеазами EcoRI и BamHI и лигировали. Полученной лигазной смесью транс-

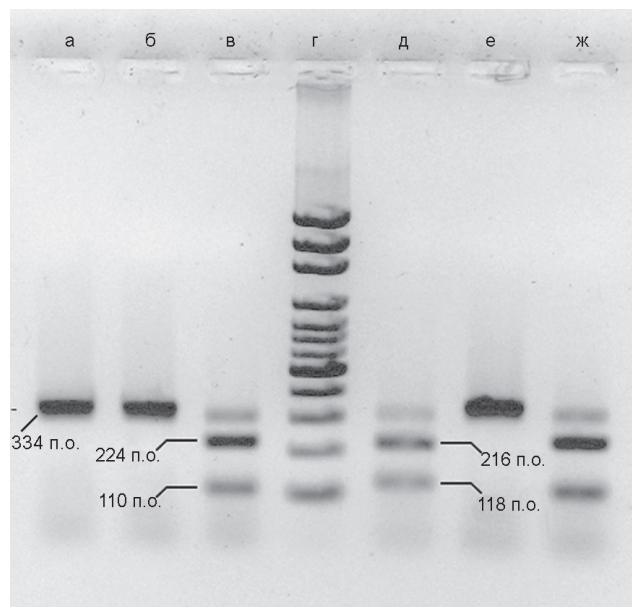


Рис. 1. Электрофоретический анализ продуктов амплификации на РНК-матрицах вирусов ККГЛ и оценка их специфичности:

а—в — ДНК-фрагмент, амплифицированный на матрице РНК вируса ККГЛ, штамм «Узбекистан»: необработанный ферментами рестрикции (а), обработанный рестриктазой Hind III (б), обработанный рестриктазой Stu I (в); г — ДНК-маркер GeneRuler 100 p DNA ladder, д—ж — ДНК-фрагмент, амплифицированный на матрице РНК вируса ККГЛ, штамм 22263/Астрахань: обработанный рестриктазой Hind III (д), необработанный ферментами рестрикции (е), обработанный рестриктазой Stu I (ж)

формировали компетентные клетки *E. coli*, штамм *Dh5 α* . Клетки выращивали на твердой селективной питательной среде, содержащей 50 мкг/мл ампициллина. После инкубации в течение ночи при 37°C отдельные колонии клеток рассеивали штрихом и выращивали при тех же условиях. Выделение рекомбинантной плазмидной ДНК и затем ее обработка соответствующими рестриктазами позволили произвести селекцию клеточных клонов, несущих гибридную плазмиду rJC40/N CCHFAs.

На последующих этапах исследования полученной гибридной плазмидой rJC40/N CCHFAs трансформировали перmissive компетентные клетки *E. coli*, штамм *BL21(DE3)*. Для экспрессии рекомбинантного полипептида трансформанты выращивали на жидкой питательной среде, содержащей 0,2% глюкозы и 50 мкг/мл ампициллина, в момент достижения бактериальной культурой оптической плотности $OD_{600}=0,3$ осуществляли индукцию биосинтеза рекомбинантного полипептида путем внесения в среду изопропил- β -D-1-тиогалактопиранозид (IPTG) до конечной концентрации 0,4 ммоль, после чего клетки инкубировали еще в течение 3,5 ч. Клетки осаждали центрифугированием и обрабатывали лизирующим буфером. Уровень экспрессии рекомбинантного полипептида оценивали электрофорезом в 15% полиакриламидном геле. На рис. 2 представлены результаты экспрессии и очистки рекомбинант-

ного полипептида вируса ККГЛ методом металлохелатной хроматографии.

Из рис. 2 А, Б видно, что в лизате клеток, содержащих рекомбинантную плазмиду rJC40/N CCHFAs, наблюдается экспрессия полипептида с молекулярной массой 15—16 кДа по сравнению с контрольным образцом, в качестве которого использовали лизат бактериальных клеток без индукции IPTG (см. рис. 2 А, в). Для очистки рекомбинантного полипептида от клеточных белков использовали метод аффинной металлохелатной хроматографии, результаты которого представлены на рис. 2 Б: во фракциях элюции (Б, ж; Б, з) присутствует рекомбинантный полипептид с молекулярной массой 15—16 кДа.

Оценку антигенной специфичности полученного рекомбинантного полипептида осуществляли методом иммунного блоттинга, для чего использовали референс-сыворотки крови человека, положительные и отрицательные на наличие специфических антител к вирусу ККГЛ. Результаты исследования представлены на рис. 3.

Сыворотки, содержащие специфические антитела к вирусу ККГЛ, при взаимодействии с рекомбинантным полипептидом, иммобилизованным на нитроцеллюлозной мембране, дают ярко выраженную полосу преципитации в области 15—16 кДа (см. рис. 3, б, в) в отличие от сыворотки, не содержащей антитела (см. рис. 3, г), что свидетельствует о способности

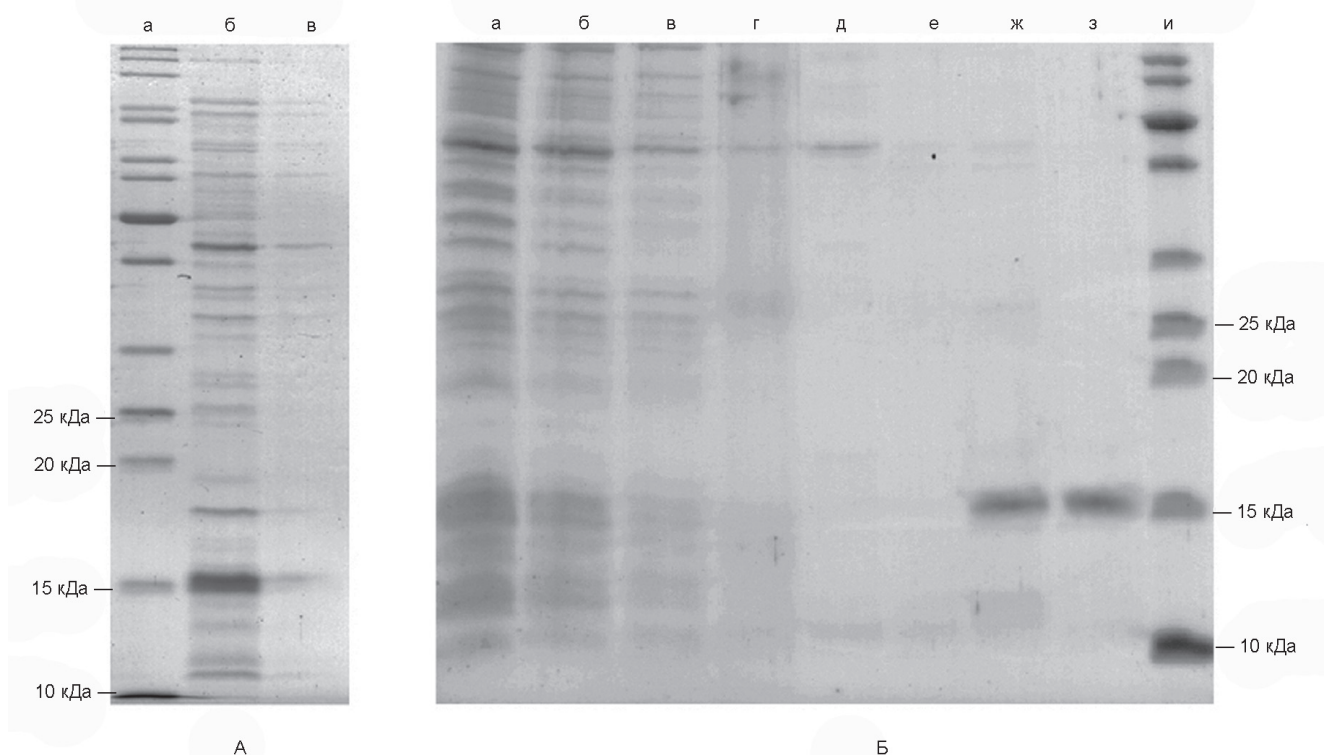


Рис. 2. Оценка уровня экспрессии и результат очистки рекомбинантного полипептида вируса ККГЛ методом металлохелатной хроматографии:

А, а — маркеры молекулярных масс, А, б — лизат бактериальных клеток после индукции IPTG, А, в — лизат бактериальных клеток без индукции IPTG — контроль; Б, а — лизат клеток, содержащий рекомбинантный полипептид, Б, б — лизат бактериальных клеток после обработки ультразвуком и центрифугирования, Б, в — лизат клеток после нанесения на колонку, Б, г—е — фракции отмывки, Б, ж, Б, з — фракции элюции, Б, и — маркер молекулярных масс

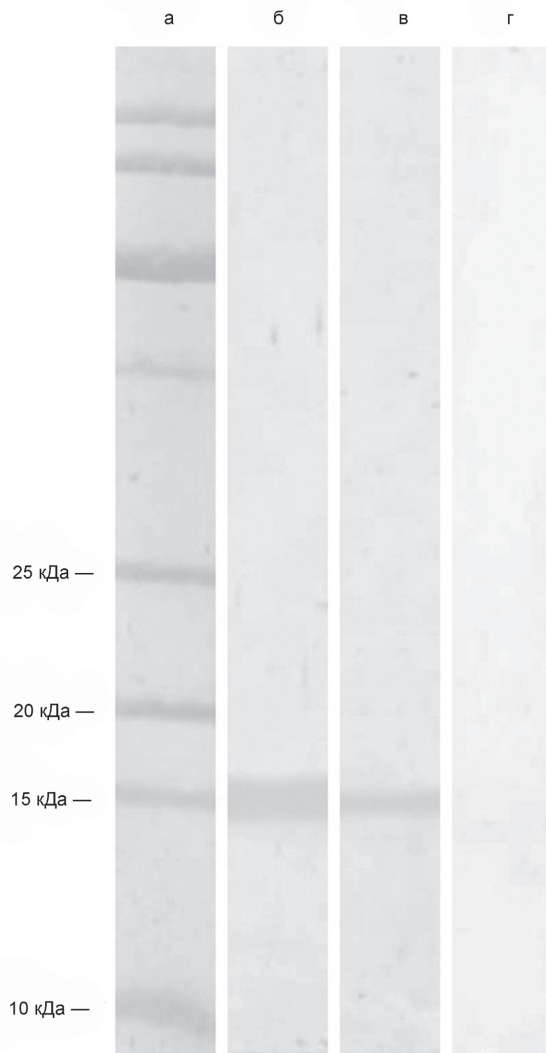


Рис. 3. Оценка специфичности рекомбинантного полипептида вируса ККГЛ методом иммунного блоттинга:

а — маркеры молекулярных масс; б, в, — рекомбинантный полипептид вируса ККГЛ, обработанный референс-сыворотками, содержащими антитела к вирусу ККГЛ; г — рекомбинантный полипептид, обработанный референс-сывороткой, не содержащей антител к вирусу ККГЛ (К-).

полученного полипептида специфически связывать антитела к вирусу ККГЛ.

В результате проведенных исследований создана гибридная векторная конструкция рJC40/N CCHFAs, обеспечивающая стабильную экспрессию рекомбинантного полипептида, представляющего собой антигенный фрагмент нуклеокапсидного белка вируса ККГЛ в прокариотической системе *E. coli*, штамм BL21(DE3). Высокоочищенный препарат ре-

комбинантного полипептида, иммобилизованный на нитроцеллюлозной мембране, способен связывать антитела к вирусу ККГЛ, находящиеся в сыворотках крови человека, проявляя тем самым высокоспецифические свойства, что позволяет рассматривать его как потенциальный рекомбинантный антиген, а в дальнейшем — как основной антигенный компонент в иммуноферментных диагностических тест-системах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д. К., Клименко С. М., Гайдамович С. Я. Арбовирусы и арбовирусные инфекции.— М., 1989.
2. Watts D. M., Ksiasek T. G., Linthicum K. J., et al. // *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*.— 1988.— Vol. 2.— P. 177—260.
3. Ergonul O. // *Lancet Infect. Dis.*— 2006.— Vol. 6.— P. 203—214.
4. Hoogstraal H. // *Med. Entomol.*— 1979.— Vol. 15.— P. 307—417.
5. Burt F. J., Leman P. A., Abbott J. C., Swanepoel R. // *Epidemiol. Infect.*— 1994.— Vol. 113.— P. 551—562.
6. Burt F. J., Swanepoel R., Braack L. E. // *Epidemiol. Infect.*— 1993.— Vol. 111.— P. 547—557.
7. Nichol S. T. *Bunyaviruses*. In: D. M. Knipe, P. M. Howley (eds.).— Philadelphia, 2001.— P. 1603—1633.
8. Zeller H. *Crimea Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective*. Springer.— 2007.— P. 233—243.
9. Семижон П. А., Фомина Е. Г., Школина Т. В. и др. // *Здравоохранение*.— 2006.— № 11.— С. 35—37.
10. Saijo M., Qing T., Niihura M., et al. // *J. Clin. Microbiol.*— 2002.— Vol. 40, № 5.— P. 1587—1591.
11. Clos J., Brandau S. // *Protein expression and purification*.— 1993.— Vol. 5.— P. 133—137.

Поступила 15.06.12.

GENERATION OF CRIMEA-CONGO-HEMORRHAGIC FEVER CAUSING VIRUS RECOMBINANT POLYPEPTIDE NUCLEOCAPSID PROTEIN AND ASSESSMENT OF ITS SPECIFICITY

P. A. Semizhon, E. P. Scheslenok, E. G. Fomina, T. V. Shkolina, A. G. Krasko, K. K. Mukanov, A. S. Vadyko

Objective. Generation of recombinant polypeptide corresponding to a fragment of Crimea-Congo hemorrhagic fever (CCHF) causing virus nucleocapsid protein by expression in the prokaryotic system and assessment of its specificity were the objective of the study.

Materials and methods. The standard molecular-biological, biochemical, and immunochemical methods such as polymerase chain reaction, agarose and polyacrylamide gel electrophoresis, affine metal chelate chromatography, immune blotting were applied.

Results. A high-purity recombinant polypeptide preparation, an antigen significant fragment of CCHF causing virus nucleocapsid protein capable to bind specific antibodies present in human serum was generated. The fragment can be considered in future as a potential antigen component for immune enzyme diagnostic test-systems.

Key words: Crimea-Congo hemorrhagic fever causing virus, recombinant polypeptide, expression of protein, immune blotting.

Адрес для корреспонденции:

Семижон Павел Анатольевич.
Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.
220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 268-04-19.

Л. Д. ГАЗИУМАРОВА, Л. П. ТИТОВ, Н. Н. ЛЕВШИНА,
С. Б. ГВОЗДИК

РАЗРАБОТКА СУХОЙ СЕЛЕКТИВНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ЛИСТЕРИЙ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Минздрава
Республики Беларусь, Минский городской центр гигиены
и эпидемиологии

Цель исследования. Разработка сухой селективной среды для выделения листерий.

Материал и методы. В работе использованы: тест-штаммы, клинические изоляты бактерий *Listeria* и их возможные ассоцианты в клиническом материале; в качестве компонентов разработанной среды испытаны различные коммерческие гидролизаты, экстракты, пептоны, соли металлов, антибиотики и красители.

Результаты. Разработан рецептурный состав сухой селективной среды для культивирования и выделения листерий из различных клинических источников, пищевых продуктов и объектов внешней среды. Хорошие ростовые и дифференцирующие качества разработанной среды, увеличение селективных свойств по сравнению с контролем, простота в приготовлении показывают перспективность ее использования для диагностики листериозной инфекции.

Ключевые слова: листерия, питательная среда, выделение, диагностика.

Листерииоз — инфекционная болезнь людей и животных, вызываемая бактериями рода *Listeria*, характеризуется множеством источников возбудителя, разнообразием путей и факторов его передачи, полиморфизмом клинических проявлений, высокой летальностью.

До недавнего времени листериозом занимались специалисты преимущественно ветеринарного профиля, так как болезнь поражает многих животных, в том числе сельскохозяйственных (овцы, крупный рогатый скот, свиньи, лошади и др.), вызывая их падеж. До 1960 г. листериоз человека был редкостью, в 1960—1980 гг. сообщалось уже о более чем тысячи заболевших. Многочисленные вспышки и спорадические случаи листериоза в высокоразвитых странах мира были связаны с употреблением готовых продуктов пищевой индустрии (сыры, особенно мягкие, мясные полуфабрикаты, салаты и др.), после чего данное заболевание стали рассматривать как одну из пищевых инфекций. Внезапность, с которой *Listeria monocytogenes* возникла как этиологический агент пищевого заболевания, не имеет аналогов [1]. По данным Управления по продуктам и лекарствам (FDA, США), партии инфицированных дынь были зарегистрированы и вывезены с ферм как минимум в 17 штатах, а число заболевших от их употребления достигло 55 человек [2]. Таким образом, проблема пищевого листериоза приобретает не только медицинское, но и социально-экономическое значение. Изъятие зараженных партий продуктов из торговли, ограничение их ввоза и вывоза, наносит значительный ущерб как странам-экспортерам, так и импортерам этих продуктов. Следует также отметить, что с целью повышения качества продовольственного сырья, обеспечения его экспорта, постановлением Минздрава Рес-

публики Беларусь № 63 регламентировано определение листерий в более чем 100 наименованиях отечественных продуктов [3].

Диагностика листериоза основывается на клинической картине, данных эпидемического анамнеза (контакт с животными) и бактериологии. Но решающее значение имеют результаты бактериологических, серологических и молекулярно-генетических методов исследования, составляющих основу идентификации и типирования этих микроорганизмов [4]. Схемы выделения листерий в зависимости от степени контаминации и количества микробных тел в исследуемом материале включают либо непосредственный высев на селективный агар, либо обогащение образца на селективном бульоне с последующим высевом на селективный агар. Поэтому в 80-е годы прошлого столетия были созданы селективные среды и методы, значительно повышающие эффективность выделения и сокращающие сроки идентификации листерий [5—8]. Значительный прогресс в области методов обогащения исследуемого материала и конструирования питательных сред для выделения листерий позволяет сделать процедуру выделения и идентификации листерий доступной для широкого круга практических микробиологических лабораторий, клинических учреждений или центров санэпиднадзора.

Для ускоренной идентификации листерий используют идентификационные системы «API Listeria» («BioMerieux», Франция) и их аналоги. Большое внимание уделяется молекулярному типированию штаммов *L. monocytogenes*. Применение пульс-электрофореза и полимеразной цепной реакции представляется наиболее перспективным для типирования вирусulentных штаммов листерий, хотя их использование в рутинной бактериологической практике ограничено. За рубежом для этих целей применяют комплекс препаратов, выпускаемых различными фирмами, в нашей стране таковые отсутствуют (как для диагностики листериоза культуральным методом, так и с помощью тест-систем).

Быстрый прогресс может быть достигнут в результате объединения усилий бактериологов, эпидемиологов и специалистов в области гигиены питания на следующих ключевых направлениях:

— налаживание производства отечественных селективных сред накопления и выделения листерий, а также других реагентов, необходимых в современных схемах диагностики этой инфекции;

— регламентация общепринятых и новых методов выделения и идентификации возбудителя соответствующими документами Минздрава Республики Беларусь.

В ходе I этапа исследований разработана среда обогащения для выделения листерий. Получены 5 экспериментальных серий препарата; изучены их физико-химические и бактериологические показатели; составлен проект научно-технической документации на ее изготовление и контроль. Более полную информацию можно найти в работах Л. Д. Газимаровой и соавт. [9, 10].

Целью настоящего исследования явилась разработка рецептурного состава сухой селективной среды для выделения листерий из различных клинических источников, объектов внешней среды, пищевых продуктов.

Материал и методы

В работе использовали тест-штаммы культур рода *Listeria* и клинические изоляты культур, выделенные из пищевых продуктов: *L. monocytogenes* ATCC 7973, *L. monocytogenes* ATCC 19111, *L. monocytogenes* №№ 259, 234, 1144, *L. ivanovii* 19119. Хранение штаммов листерий осуществляли на питательном бульоне в замороженном состоянии при температуре -20°C .

При разработке образцов конструируемой среды были использованы тест-штаммы и клинические изоляты бактерий — возможных ассоциантов культур листерий в клиническом материале: *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 11775, *E. coli* ATCC O57, *Str. faecalis*, *Pr. vulgaris*, *K. pneumoniae* (клинические изоляты из коллекции лаборатории клинической и экспериментальной микробиологии). Последние хранили на полужидком агаре в холодильнике при температуре $+4\text{—}8^{\circ}\text{C}$ под слоем стерильного вазелинового масла с обязательным пересевом не реже 1 раза в месяц.

Контрольной средой служил питательный агар для выделения листерий производства Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболенск, Московская обл.).

В качестве базисной основы экспериментальных образцов среды апробированы сухие гидролизаты, питательные бульоны, пептоны, изготовленные из различных белковых субстратов и разными фирмами-производителями. В качестве ростовой добавки — дрожжевой экстракт производства «Hi Media» (Индия).

Для приготовления селективного варианта среды использовали широкий спектр химических соединений, солей металлов, антибиотиков и красителей.

Бактериологический контроль качества образцов разрабатываемой среды осуществляли по следующим показателям: специфическая активность, ингибирующие свойства согласно рекомендациям по организации и проведению контроля качества бактериологических исследований [4, 11—13]. Для этого 2-суточные агаровые культуры рода *Listeria* подвели под стандарт мутности ГИСК им. Тарасевича в 10 ед, разводили

ли физиологическим раствором до 10^{-5} и 10^{-6} и высевали суспензии по 0,1 мл на чашки с агаром. Суточную агаровую культуру бактерий-ассоциантов разводили физиологическим раствором по той же схеме, что и выделяемую. Посев проводили из 10^{-3} — 10^{-4} по 0,1 мл на чашку. Результаты учитывали не позднее 48 ч инкубации при температуре 37°C по наличию роста культур листерий, ингибции бактерий-ассоциантов и их четкой дифференциации друг от друга.

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью программы STATISTICA 7.0. Данные приведены в виде средних значений и стандартного отклонения ($M \pm Sd$).

Результаты и обсуждение

Разработка рецептурного состава питательной среды для культивирования и выделения листерий. Создание питательных сред для микроорганизмов требует взвешенной оценки как отдельного ингредиента, так и взаимодействия всех компонентов друг с другом. Обеспечение процессов роста и размножения микроорганизмов, которые должны получать все вещества, необходимые для синтеза всех клеточных компонентов, имеют первостепенное значение. Более того, питательные вещества следует содержать в конструируемой среде в количествах, соответствующих специфическим потребностям микроорганизма. Известно, что листерии обладают высокой метаболической активностью и хорошо растут на средах с повышенным содержанием аминного азота [11]. Разработку базисного варианта среды начали с подбора питательной основы препарата, включающей различные коммерческие гидролизаты, изготовленные на мясных, рыбных продуктах, казеине, взятые как самостоятельные ингредиенты, так и в сочетании друг с другом (табл. 1).

Вторым, не менее важным моментом, является введение в состав испытуемых образцов селективных агентов, обеспечивающих изоляцию и дифференциацию культур листерий от бактерий — их возможных ассоциантов в клиническом материале. Для этих

Таблица 1

Качественный и количественный состав различных белковых основ для культивирования листерий

№ п/п	Ингредиенты	Количество, г/л	Фирма-производитель
1.	Панкреатический гидролизат казеина.	10,0	Государственный научный центр (ГНЦ) прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболенск). Научно-исследовательский центр фармакотерапии (Санкт-Петербург)
	Пептон для бактериологических питательных сред	10,0	
2.	Гидролизат мяса ферментативного (ГМФ бульон).	25,0	Научно-исследовательский центр фармакотерапии (Санкт-Петербург)
	Натрия хлорид	5,0	
3.	Пептон для бактериологических питательных сред (мясной).	20,0—25,0	Научно-исследовательский центр фармакотерапии (Санкт-Петербург)
	Натрия хлорид	3,5	
4.	Панкреатический гидролизат рыбной муки.	8,0	ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболенск)
	Пептон ферментативный.	8,0	
	Натрия хлорид	3,5	
Контроль	Панкреатический гидролизат рыбной муки.	7,5	ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболенск)
	Пептон мясной.	7,5	
	Панкреатический гидролизат казеина.	10,0	
	Натрия хлорид	3,5	

целей апробированы лития хлорид и поваренная соль. Первый — для подавления роста энтерококков, вторая — в качестве источника хлоридов, необходимых для роста и размножения листерий.

Принципиально важным для разработки методики выделения листерий стало испытание эскулина и цитрата аммонийного железа, входящих в состав большинства сред данного целевого назначения. Введение эскулина в качестве единственного источника углерода и цитрата железистого аммония — как индикатора гидролиза углеводов, позволяет с высокой степенью надежности дифференцировать листерии от посторонней микробной флоры.

Известно, что листерии способны гидролизовать эскулин до глюкозы и эскулятина, который реагирует с цитратом аммонийного железа, образуя комплекс из этих веществ. В результате реакции продуктов гидролиза цвет среды меняется, что приводит к образованию черного ореола вокруг выросших колоний. Названные ингредиенты были раститрованы в различных концентрациях и апробированы вместе с питательными основами. В общей сложности приготовлено и испытано 30 образцов питательных сред, изучены их физико-химические и бактериологические показатели. Сравнительные данные роста культур *Listeria* на образцах с различными белковыми основами в комплексе с другими ингредиентами, входящими в питательный агар, иллюстрирует табл. 2.

Результаты анализа данных показали, что наилучшие показатели роста культур отмечены на образце № 3, где в качестве питательной основы использован пептон для бактериологических питательных сред производства Научно-исследовательского центра фармакологии (Санкт-Петербург). Указанный пептон в сочетании с дрожжевым экстрактом и другими подобранными ингредиентами обеспечивал выход наибольшего числа колоний типичной морфологии. Испытание других гидролизатов не показало принципиальной разницы по выходу и размерам выросших колоний либо эти различия касались разновидности используемых для контроля тест-штаммов. Однако нужно отметить и тот факт, что подобранная питательная основа проще по компонентному составу и содержит всего 1 гидролизат по сравнению с контролем, что сократит технологический процесс изготовления, следовательно, и материальные затраты на ее производство.

Таким образом, разработан рецептурный состав питательного агара для выделения листерий из различных клинических источников и объектов внешней среды. В состав базисной питательной основы среды вошли ингредиенты, взятые в следующих весовых соотношениях: пептон для бактериологических питательных сред — 25,0 г/л; дрожжевой экстракт — 2,0 г/л; натрия хлорид — 3,5 г/л; лития хлорид — 13,0 г/л; эскулин — 0,8 г/л; железа аммонийного цитрат — 0,5 г/л; агар — 10,0±1,0 г/л; pH 7,2±0,2.

Среда автоклавировалась при 0,5 атм в течение 20 мин, она может быть использована в качестве базисной основы для культивирования и выделения листерий.

Подбор селекционирующих агентов. Специальные питательные среды, предназначенные для избирательного (элективного) получения выделяемых культур, обеспечивают преимущественное развитие одного вида или группы микроорганизмов. В основе избирательности среды лежит положительная и отрицательная селекция. В первом случае эффект достигается путем создания оптимальных для микроорганизма условий (состав питательных веществ, концентрации солей, pH), что было сделано при подборе базисной питательной основы среды. Отрицательная селекция осуществляется путем добавления в среду веществ, угнетающих другие микроорганизмы (ассоцианты) выделяемой культуры в клиническом материале. Сопутствующие микроорганизмы или совсем не растут на таких средах, или развитие их в значительной степени подавляется. Кроме LiCl, введенного в состав питательной основы, был испытан ряд антибиотиков, подавляющих рост как грамположительной, так и грамотрицательной микробной флоры: полимиксин В сульфат (10,0 мг/мл), налидиксовая кислота (20,0 мг/мл) и акрифлавин (10,0 мг/мл).

Антибиотики предварительно растворяли в 5,0 мл стерильной дистиллированной воды и добавляли в растопленный и охлажденный до 45—50°C агар в количестве 4,0—4,5 мл на 1,0 л среды. Готовая питательная среда, приготовленная впрок, хранится в темном месте при температуре 2—8°C не более 7 сут, так как акрифлавин, входящий в ее состав, может окисляться на свету с образованием продуктов, подавляющих рост листерий. Перед употреблением чашки со средой подсушивали в термостате при 37°C в течение 30—40 мин и проводили посев культур листерий из

Таблица 2

Показатели роста культур на средах с различными белковыми основами

Тест-штамм	Количество и размер (мм) колоний					
	посевная доза	1	2	3	4	контроль
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7973	1000 м.т.	450,0±7,0 1,0—2,0	280,0±5,0 1,0—2,0	570,0±6,0 1,5—2,0	508,0±7,0 1,5—2,0	480,0±4,0 1,5—2,0
	100 м.т.	42,0±4,0 2,0	20,0±3,0 2,0	67,0±5,0 1,5—2,0	53,0±3,0 1,5—2,5	47,0±4,0 1,5—2,0
<i>L. monocytogenes</i> 234	1000 м.т.	690,0±7,0 1,0—2,0	870,0±9,0 1,0—2,0	~1000 1,0—1,5	580,0±8,0 1,0—2,0	560,0±5,0 1,0—2,0
	100 м.т.	75,0±5,0 0,15—0,2	85,0±7,0 0,15—0,2	92,0±8,0 0,15—0,2	76,0±5,0 0,15—0,2	64,0±6,0 1,5—2,0
<i>L. ivanovii</i> ATCC 19119	1000 м.т.	470,0±6,0 2,0	550,0±6,0 1,5—2,0	590,0±8,0 1,5—2,0	500,0±8,0 1,5—2,0	460,0±5,0 2,0
	100 м.т.	38,0±4,0 2,0	40,0±3,0 2,0	49,0±5,0 2,0	43,0±6,0 1,5—2,0	40,0±5,0 1,5—2,0

20 Проблемы эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней

минимальных посевных доз (10^{-6}), ассоциантов — в концентрациях, превышающих в сотни и тысячи раз концентрацию листериозной культуры (10^{-1} — 10^{-4}).

При сравнительной оценке эффективности разработанной и контрольной сред расширили набор тестовых культур, контролирующих ее качество. По данным ряда авторов, наряду с кишечной палочкой, протеем чаще других в исследуемом материале встречаются клебсиелла пневмония и стрептококк фекальный, имеющий сходные морфологические свойства с выделяемой культурой [14]. Кроме того, энтерококки, как и листерии, могут гидролизовать эскулин, входящий

в состав питательной основы препарата, изменяя цвет среды вокруг колоний на черный. Поэтому полная ингибция этой культуры на средах данного целевого назначения представляет наибольший интерес (табл. 3).

Как следует из данных, при равных показателях специфической активности на разработанной и контрольных средах, ингибирующие свойства последней несколько хуже, чем первой (наблюдается рост кишечной палочки и энтерококка, не отличающегося по цвету и морфологии выросших колоний от выделяемой культуры). Рост стафилококков и клебсиеллы подавляется в одинаковой степени, а их выросшие немно-

Таблица 3

Сравнительная оценка эффективности разработанной и контрольных сред

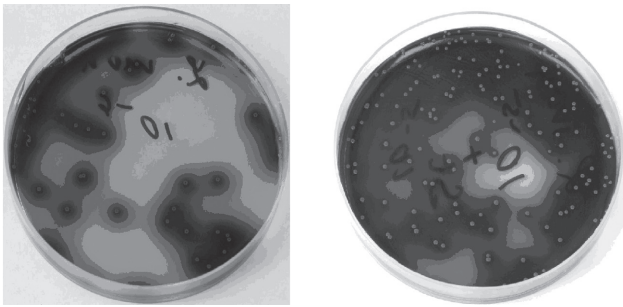
Тест-штамм	Посев из разведения	Разработанная среда (количество и цвет колоний)		Контрольная (ПАЛ) (количество и цвет колоний)	
		специфическая активность	ингибирующие свойства	специфическая активность	ингибирующие свойства
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7973	10^{-6}	70±5,0 Зеленовато-серые с черным ореолом	—	66,0±5,0 Зеленовато-серые с черным ореолом	—
<i>L. monocytogenes</i> 234	10^{-6}	89±8,0 Зеленовато-серые с черным ореолом	—	77,0±6,0 Зеленовато-серые с черным ореолом	—
<i>L. ivanovii</i> ATCC 19119	10^{-6}	49±3,0 Зеленовато-серые с черным ореолом	—	50,0±4,0 Зеленовато-серые с черным ореолом	—
<i>E. coli</i> ATCC 0157	10^{-3} 10^{-4}	—	Рост отсутствует	—	43±4,0 Желтого цвета
<i>E. coli</i> ATCC 25922	10^{-3} 10^{-4}	—	Рост отсутствует	—	38±2,0 Желтого цвета
<i>Str. faecalis</i> 174	10^{-1} 10^{-2} 10^{-3}	—	Рост отсутствует Рост отсутствует Рост отсутствует	—	Сплошной рост колонии с черным ореолом
<i>K. pneumoniae</i> 56	10^{-4}	—	1—2 Желтого цвета	—	1—2 Желтого цвета
<i>St. aureus</i> 1418	10^{-4}	—	50,0±5,0 Желтого цвета	—	70±6,0 Желтого цвета

Таблица 4

Верифицированные штаммы рода *Listeria*, выделенные из пищевых продуктов

Видовое наименование штамма	Номер (код штамма)	Источник выделения	Метод выделения	Кол-во	Место выделения	Откуда поступил
<i>L. monocytogenes</i>	1144	Мозги свиные замороженные	Бактериологический	1	Гродненский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья	Частное производственное предприятие «Мостовский кумпячок», дер. Княжеводцы, РБ
<i>L. monocytogenes</i>	234	Шпик свиной глубокой заморозки	Бактериологический	1	Могилевский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья	Pacific Commodities, Испания
<i>L. monocytogenes</i>	259	Шпик свиной глубокой заморозки	Бактериологический	1	Могилевский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья	Польша, г. Рава
<i>L. ivanovii</i>	13	Шпик свиной	Бактериологический	1	Белорусский ветеринарный центр	Украина
<i>L. innocua</i>	15	Шпик свиной	Бактериологический	1	Белорусский ветеринарный центр	Украина
<i>L. monocytogenes</i>	1154	Шпик свиной	Бактериологический	1	Белорусский ветеринарный центр	Украина
<i>L. ivanovii</i>	1911	Шпик свиной	Бактериологический	1	Белорусский ветеринарный центр	Украина
<i>L. grayi</i>	1212/3	Фарш домашний	Бактериологический	1	Минский областной центр гигиены	РБ
<i>L. grayi</i>	1214/4	Фарш куриный	Бактериологический	1	Минский областной центр гигиены	РБ

гочисленные колонии (при посевной дозе 10000 м. т.) четко дифференцируются от листерий (рисунок).



Рост культуры микроорганизмов на разработанной селективной среде: а — *L. monocytogenes*; б — *L. ivanovii*

Таким образом, хорошие ростовые и дифференцирующие качества, увеличение селективных свойств среды, простота в приготовлении и возможность выпуска в виде коммерческого препарата показывает перспективность ее использования для диагностики листериозной инфекции.

Верификация штаммов бактерий рода *Listeria*.

Сконструированные среды, опыт работы с ними позволили оказать помощь в расшифровке и идентификации культур, подозрительных в отношении рода *Listeria*. Изучены 9 штаммов листерий, поступивших из Минского, Гродненского, Могилевского областных центров гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, а также из Белорусского государственного ветеринарного центра. Штаммы выделены из продуктов животноводства (шпик свиной глубокой заморозки, свиные мозги, куриный фарш, домашний фарш), идентифицированы по биологическим и биохимическим признакам согласно Методическим рекомендациям по выявлению возбудителей листериоза. Культуры также идентифицированы на автоматическом бактериологическом анализаторе «Vitek 2 Compact» («BioMérieux», Франция). Изученные тесты, а также показания прибора подтвердили принадлежность выделенных изолятов к *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua* и *L. grayi* с вероятностью 92% (табл. 4). Штаммы хранятся в музее лаборатории в замороженном состоянии при температуре -20°C, а также переданы в коллекцию и криобанк института.

Выводы

1. Разработана рецептура сухой селективной среды для культивирования и выделения листерий из различных клинических источников, пищевых продуктов и объектов внешней среды. В качестве питательной основы разработанной среды использован пептон мясной, дрожжевой экстракт, ряд солей и ингредиентов, обеспечивающих селективный рост и дифференциацию этих культур от бактерий-ассоциантов.

2. Основными преимущественными отличиями от известных питательных сред является высокая эффективность препарата, простота изготовления из сухих ингредиентов и экономическая целесообразность, что позволит снизить затраты на выполнение анализов по диагностике листериозов.

3. Верифицированы 9 штаммов, подозрительные на принадлежность их к бактериям рода *Listeria*. Полученные штаммы идентифицированы и законсервированы при температуре -20°C в лаборатории клинической и экспериментальной микробиологии, а также переданы в коллекцию и криобанк института.

ЛИТЕРАТУРА

1. Джей Дж. М., Лесснер М. Дж., Гольден Д. А. Современная пищевая микробиология.— М., 2012.
2. www.news.open.by. Рубрика «Здоровье» от 25.09.2011.
3. Постановление Минздрава Республики Беларусь № 63 от 9.06.2009 «Об утверждении Санитарных правил и гигиенических нормативов «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов».— Минск, 2009.
4. Методические рекомендации по выявлению возбудителей листериоза животных и людей // www.bespravo.ru/sss/gn-pravo/yoa/index.htm.
5. Biosciences Catalogue. Microbiology, Animal Cell Culture, Plant & Insect Tissue Culture, Molecular Biology Products, Himedium Laboratories, 2008—09.
6. Каталог «Бактериологические среды для санитарной и клинической микробиологии, биотехнологии и контроля лекарственных средств».— Оболенск, 2000.
7. Комментированный каталог «Готовые питательные среды».— СПб., 2000.
8. Справочник по микробиологическим питательным средам и микротест-системам.— Махачкала, 2003.
9. Газиумарова Л. Д., Паньшина Е. Ф., Титов Л. П., Левшина Н. Н. // Сб. научн. трудов.— Минск, 2011.— Вып. 4.— С. 250—254.
10. Отчет по н/у работе 02.09. «Разработать сухие питательные среды, тест-систему для биохимической идентификации и метод генотипирования листерий с целью микробиологического мониторинга».— Минск, 2011.
11. ГОСТ PS1921-2002. Продукты пищевые. Методы выделения и определения бактерий *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах. Госстандарт России.— М., 2002.
12. Коломиец Н. Д. и др. Микробиологические методы исследования биологического материала: Инструкция по применению.— Минск, 2010.
13. Питательный агар для выделения листерий (Среда ПАЛ) ТУ 9398-052-78095326-2010.— Оболенск, 2010.
14. Храмов М. В., Ажермачева Н. И., Маракуша Б. Н. и др. // Материалы III междунар. научн.-практич. конф. «Актуальные вопросы разработки и производства диагностических питательных сред и тест-систем».— Махачкала, 2001.— С. 45.

Поступила 24.07.12.

DEVELOPMENT OF DRY SELECTIVE MEDIUM FOR SEPARATING *LISTERIA*

L. D. Gaziumarova, L. P. Titov, N. N. Levshina, S. B. Gvozdik

Objective. Development of dry selective medium for isolating *Listeria* was the purpose of the study.

Materials and methods. *Listeria* test strains, clinical isolates and possible associates occurred in the clinical material were used in the work; various commercial hydrolyzates, extracts, peptones, salts of metals, antibiotics, and dyes were tried as the components of the medium developed.

Results. The dry selective medium formulation for *Listeria* cultivation in and isolation from various clinical sources, food products, and environment objects were tested. Good growth and differentiation properties of the medium developed, the selective characteristics increase as compared with the control ones, the preparation simplicity evidence that its application for the *Listeria* infection diagnosis is perspective.

Key words: *Listeria*, culture medium, isolation, diagnosis.

Адрес для корреспонденции:

Газиумарова Людмила Дмитриевна.
Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.
220114, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 267-80-64.

С. А. ДРАКИНА, М. Е. ХМАРА, В. А. СТЕГНИЙ,
Е. В. ТИМОФЕЕВА, Н. С. ВЕРЕЩАКО, С. А. ЛИХАЧЕВ,
С. М. РОВБУТЬ

ОСОБЕННОСТИ ВИРУСНО- БАКТЕРИАЛЬНЫХ АССОЦИАЦИЙ ПРИ ДЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Приведены результаты вирусных и серологических исследований по выявлению ДНК герпетических вирусов и антител к спирохетозному антигену как патогенов, имеющих общие антигенные детерминанты с основным белком миелина, у больных демиелинизирующими заболеваниями. Наиболее тяжелое течение отмечено в группе пациентов с двумя патогенами и более (при сочетании различных типов герпетических вирусов), что соответствует данным литературы о хронизации процесса. Подобные сообщества характерны для хронического течения нейроинфекций, что свидетельствует о необходимости проведения комплексной противовирусной и антибактериальной терапии.

Ключевые слова: демиелинизирующие заболевания, ДНК герпетических вирусов, антитела.

В настоящее время диагностика и лечение демиелинизирующих заболеваний (ДЗ) является не только медицинской проблемой. Они имеют важное социальное значение, поскольку во всем мире наблюдается неуклонный рост числа больных, увеличиваются социально-экономические потери, связанные с исключением из трудового процесса наиболее молодой и перспективной части населения [1]. Существует ряд гипотез о возможных механизмах поражения миелина или миелообразующих клеток при вирусной или бактериальной инфекции. В последнее время из возможных этиопатогенетических факторов большое значение придается инфекционным патогенам, имеющим общие антигенные детерминанты с основным белком миелина, а именно герпетическим вирусам и спирохетам как экзогенным (возбудитель клещевого боррелиоза), так и эндогенным [2]. Кроме того, вирусы и бактерии могут участвовать в процессе демиелинизации за счет неспецифического поражения миелина при иммунном ответе на действие инфекционного агента или через поликлональную активацию иммунных клеток, в том числе и специфических к антигенам миелина [3, 4]. Известно, что для данной патологии характерны периваскулярные инфильтраты, состоящие главным образом из лимфоцитов, моноцитов и плазматических клеток, как в очагах миелина, так и вдали от них, а также гиперемия мелких сосудов и капилляров, отек ткани мозга. Указанный комплекс морфологических признаков этих заболеваний, позволяет отнести их в группу лейкоэнцефалитов и энцефаломиелитов, в этиологии и патогенезе которых прямую или опосредованную роль играют различные инфекционные патогены [5, 6, 7]. В то же время убедительные данные о каком-либо одном или

группе инфекционных патогенов, вызывающих процессы демиелинизации, отсутствуют, хотя участие инфекции в запуске обострений не вызывает сомнения [6].

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы явилось обследование больных с ДЗ на наличие ДНК герпетических вирусов, а также спирохетозных и противогерпетических антител в качестве наиболее вероятных этиологических факторов, вызывающих развитие хронической рецидивирующей нейроинфекции, как это имеет место, например, при хроническом герпетическом энцефалите и хроническом клещевом боррелиозе [9, 10].

Материал и методы

Обследованы 52 пациента с различными формами ДЗ (мужчин — 23, женщин — 29, средний возраст — $32 \pm 7,4$ года, длительность заболевания составила $3,9 \pm 3,0$ года). У всех пациентов отмечались либо обострение, либо острая фаза заболевания. Больным выполнялась МРТ головного или спинного мозга, анализ заключений которой показал, что все пациенты имели демиелинизирующее заболевание ЦНС. Для большей репрезентативности вирусологических и серологических результатов исследований не разделяли ДЗ по формам, это является целью дальнейших исследований.

Для вирусологического исследования проводился забор ЦСЖ, венозной крови путем венопункции по стандартной методике.

Определение ДНК вируса простого герпеса 1-го типа (ВПГ1), Эпштейна—Барр (ВЭБ), цитомегаловируса (ЦМВ), герпеса 6-го типа (ВГЧ6) осуществляли с использованием коммерческих наборов «ДНК-технология» в соответствии с прилагаемыми протоколами.

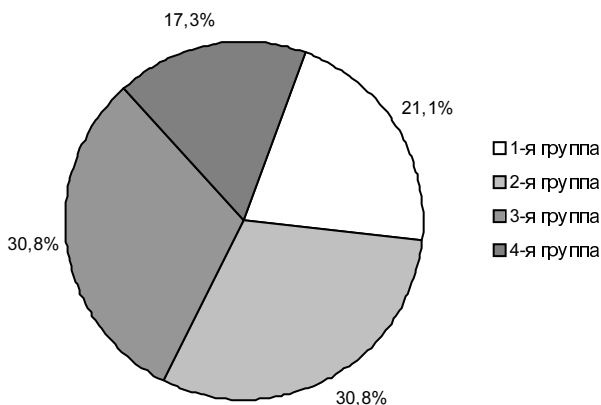
Антитела к спирохетозному антигену выявляли с помощью реакции непрямой иммунофлюоресценции (НРИФ) с помощью тест-системы, разработанной и зарегистрированной в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, согласно прилагаемой инструкции. Материалом для иммунологических исследований служила венозная кровь.

Количественное выявление IgG к ВПГ1, ВЭБ и ЦМВ проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов производства «Virion-Serion» (Германия) в соответствии с прилагаемым протоколом.

Результаты и обсуждение

На основании результатов ИФА и ПЦР все обследуемые были разделены на 4 группы. В 1-ю вошли пациенты с наличием ДНК герпетических вирусов, во 2-ю — с ДНК герпетических вирусов и спирохетозными антителами, в 3-ю — только со спирохетозными антителами и 4-ю группу составили пациенты, у которых не была обнаружена ДНК исследуемых герпетических вирусов и спирохетозных антител (рисунок).

Как видно из рисунка, ДНК герпетических вирусов выделена у 51,9% пациентов, спирохетозные антитела — у 61,6%, и у 17,3% ДНК вирусов и спирохе-



Распределение пациентов по группам в зависимости от наличия ДНК вирусов и антител к спирохетозному антигену

тозные антитела не обнаружены. Однако у последних, как и у всех обследованных пациентов, определялись антитела к ВПГ1, ВЭБ и ЦМВ, превышающие уровень в контроле в 3—4 раза.

В табл. 1 представлены результаты вирусологических исследований, проведенных в 1-й группе.

Установлено, что в этой группе чаще выделялась ДНК ВЭБ и ВГЧ6, с одинаковой частотой — ВПГ и ВЭБ, реже — ДНК ЦМВ, в 1 случае обнаружены все 3 патогена.

Анализ клинической картины у пациентов данной группы показал, что в неврологическом статусе преобладало поражение черепных нервов (чаще всего III, IV, VI, VII, IX и XII пары). Это проявлялось нистагмом (горизонтальным), элементами межъядерной офтальмоплегии, асимметрией лица и девиацией языка в ту или иную сторону. Поражение черепных нервов наблюдалось более чем у 90% пациентов. У 3 больных был диагностирован легкий стволово-мозжечковый синдром. Поражение пирамидной системы также было незначительным и проявлялось пирамидной недостаточностью. Нарушение чувствительной сферы (гипестезия) наблюдалось редко. Так, по данным исследования вибрационной чувствительности, лишь у 2 пациентов отмечалась легкая гипестезия конечностей.

В табл. 2 приведены результаты вирусологических исследований во 2-й группе пациентов. Наиболее часто выделялся ВПГ, с одинаковой частотой — сочетание ВЭБ+ВГЧ6 и ЦМВ.

Обращает внимание тот факт, что в обеих группах доминировало сочетание 2 патогенов — ВЭБ и ВГЧ6. В этой группе наряду с ДНК герпетических вирусов определялись спирохетозные антитела, средний титр которых составил $74,6 \pm 2,10$.

В отличие от 1-й группы, где основной вклад в клиническую картину вносило поражение черепных нервов, у пациентов 2-й группы отмечалось выраженное поражение всех систем. Со стороны черепных нервов отмечали нистагм, межъядерную офтальмоплегию, асимметрию оскала. Нарушения пирамидной системы выражались в виде повышения рефлексов, изме-

нений тонуса, парезов (от моно- до пара-). В стволово-мозжечковой системе наблюдались нарушения стояния в позе Ромберга, при выполнении координаторных проб, атаксия при ходьбе, что отражалось на способности пациентов к передвижению и самообслуживанию.

У 43% пациентов отмечался легкий стволово-мозжечковый синдром, у 25% — умеренный. Исследование вибрационной чувствительности показало, что у более 50% пациентов имелась умеренная, из них у 2 — выраженная гипестезия конечностей и тела. В данной группе больных отмечалось выраженное поражение 2 и более систем в неврологическом статусе, их различное сочетание (пирамидная + стволово-мозжечковая; пирамидная + чувствительная + поражение черепных нервов и т. д.), что сказывалось на степени выраженности клинических проявлений.

В 3-й группе пациентов определялись только спирохетозные антитела, титр которых составил в среднем $12,9 \pm 0,72$ и был в 5 раз ниже по сравнению с группой, где наряду с наличием спирохетозных антител обнаруживали одновременно ДНК герпетических вирусов.

Преобладали координаторные нарушения, которые у 71% больных имели легкую, у 35% — умеренную степень выраженности. Изменения в чувствительной сфере были незначительными и проявлялись легкой гипестезией у 13% пациентов (по данным определения вибрационной чувствительности).

Нарушения черепных нервов характеризовались нистагмом, легкой асимметрией оскала. Пирамидные нарушения касались изменения тонуса, повышения рефлексов; у 4 пациентов отмечался монопарез, у 1 — парапарез.

В 4-й группе обследуемых не определялась ДНК герпетических вирусов и не выявлялись спирохетоз-

Таблица 1
Частота выделения ДНК герпетических вирусов у пациентов 1-й группы (n=11)

ДНК	Количество выделений	
	абс.	%
ВЭБ+ВГЧ6	3	27,2
ВПГ	2	18,2
ВЭБ	2	18,2
ЦМВ	1	9,1
ЦМВ+ВЭБ	1	9,1
ЦМВ+ВГЧ6	1	9,1
ВПГ+ВЭБ+ВГЧ6	1	9,1

Таблица 2
Частота выделения ДНК герпетических вирусов во 2-й группе обследуемых (n=14)

ДНК	Количество выделений	
	абс.	%
ВПГ	5	31,3
ЦМВ	3	18,8
ВГЧ6	2	12,5
ВЭБ	1	6,3
ВЭБ+ВГЧ6	3	18,8
ВПГ+ВЭБ+ВГЧ6	1	6,3
ВПГ+ВЭБ	1	6,3

ные антитела. Однако у больных данной группы, как и во всех описанных выше, обнаруживались антитела к герпетическим вирусам, титр которых были достоверно выше (в среднем в 3—4 раза) по отношению к соответствующему контролю. По клиническим проявлениям данная группа сопоставима со 2-й. Так, отмечалось поражение 2 и более неврологических систем, их различное сочетание, однако эти нарушения были менее выражены.

Со стороны черепных нервов отмечали нистагм, элементы межъядерной офтальмоплегии, асимметрию оскала. Со стороны пирамидной системы — изменение сухожильно-периостальных рефлексов, тонуса, парезы. Однако в отличие от 2-й группы не наблюдались паразезы, монопарез отмечен у 5 пациентов. Нарушения чувствительной сферы также имели легкий характер. Анализ вибрационной чувствительности показал либо норму, либо легкие нарушения (гипестезия) у 50% пациентов. Со стороны стволово-мозжечковой системы наблюдались миопопадание при выполнении координаторных проб, неустойчивость в позе Ромберга (30%).

При сравнении клинической картины до и после лечения глюкокортикостероидами наблюдалось достоверное улучшение в неврологическом статусе у всех обследуемых пациентов. Однако при сравнении группы, где не были определены инфекционные патогены (ДНК герпетических вирусов и спирохетозных антитела), с остальными, можно заключить, что регресс неврологического дефицита был более выражен. Так, отмечалась достоверно большая выраженность парезов до и после терапии. В 4-й группе она увеличилась в среднем более чем на 1 балл ($1,2 \pm 0,12$), а в группах с инфекционными патогенами — на $0,6 \pm 0,1$ балла ($P < 0,05$).

Таким образом, самые тяжелые клинические проявления были отмечены у пациентов 2-й группы с наличием спирохетозных антител и ДНК герпетических вирусов, несмотря на наличие у них противогерпетических антител. По-видимому, это обусловлено их низким аффинитетом к герпетическим патогенам. В результате проведенного лечения наибольший эффект был достигнут у пациентов 4-й группы, что может указывать на высокий аффинитет противогерпетических антител. Это подтверждается отрицательными данными по выявлению ДНК герпетических вирусов, то есть имела место их инактивация.

Наличие спирохетозных антител и ДНК герпетических вирусов свидетельствует о роли микст-инфекции в развитии ДЗ. Существование вирусно-бактериальных сообществ предполагает хроническое рецидивирующее течение ДЗ, что соответствует данным литературы о таких ассоциациях, определяющих своеобразие клинических проявлений [11]. Вышеизложенное ставит вопрос о необходимости проведения комплексной противовирусной и антибактериальной терапии.

Выводы

1. В группе пациентов с герпетическими вирусами преобладало поражение черепных нервов; в груп-

пе со спирохетозными антителами — координаторные нарушения. У обследованных с наличием вирусов и спирохетозных антител отмечался полиморфизм неврологических нарушений. При этом степень проявлений неврологического дефицита во 2-й группе выше, чем в 1-й и 3-й.

2. У больных с отсутствием вирусов и спирохетозных антител в крови по сравнению с первыми тремя группами отмечалось достоверное увеличение длительности заболевания ($P < 0,05$). Накопление неврологического дефицита в этой группе происходило более медленно, отсюда и более благоприятное течение заболевания.

3. При сравнении клинической картины до и после лечения глюкокортикостероидами наблюдалось достоверное улучшение неврологического статуса у всех пациентов. Однако в группе, где не было выявлено инфекционных патогенов, регресс неврологического дефицита более выражен.

ЛИТЕРАТУРА

1. Котов С. В., Якушина Т. И., Лиждвой В. Ю. // Журн. неврологии и психиатрии.— 2012.— № 3.— С. 60—62.
2. Субботин А. В., Арефьева Е. Г., Семенов В. А. и др. // Медицина в Кузбассе.— 2008.— № 5.— С. 145—148.
3. Гусев Е. И., Демина Т. Л., Бойко А. Н. Рассеянный склероз.— М., 1997.
4. Martin R., Gran B., Zhao Y., et al. // Autoimmunol.— 2001.— Vol. 16.— P. 187—192.
5. Вельгин С. О., Хмара М. Е., Протас И. И., Тумов Л. П. // Нейроиммунология.— 2007.— Т. 5, № 1.— С. 12—15.
6. Рассеянный склероз // Избранные вопросы теории и практики. Под ред. И. А. Завалишина, В. И. Головкина.— М., 2000.
7. Wolfson C., Talbot P. // Lancet.— 2002.— Vol. 360.— H. 352—353.
8. Fritzsche M. // Medical Hypothesis.— 2005.— № 64.— P. 438—448.
9. Протас И. И., Недзьведь М. К., Хмара М. Е. Хронический герпетический энцефалит (клиника, морфология, этиопатогенез): Руководство для врачей.— Минск, 2009.
10. Спириун Н. Н., Баранова Н. С., Степанов И. О. // Consilium medicum.— 2008.— Т. 10, № 7.— С. 15—18.
11. Fen Ze Hu, Garth D. Eh. // Future Medicine.— 2008.— Vol. 3, № 1.— P. 31—42.

Поступила 26.06.12.

PECULIAR FEATURES OF VIRUS AND BACTERIA ASSOCIATIONS UNDER DEMYELINIZING DISEASES

S. A. Drakina, M. E. Khmara, V. A. Stegnyy, E. V. Timofeyeva, N. S. Vereshchako, S. A. Likhachev, S. M. Rovbut

The results of viral and serological studies related to detecting the herpes virus DNA and antibodies to spirochetal antigens as pathogens having common antigen determinants with the basic protein myelin in patients suffering from demyelinating diseases are summarized. The most severe course has been observed among the patients having two pathogens or more (when various types of herpes virus are found combined) conforming to the literature data on the process becoming chronic. Such associations are characteristic for the neuroinfection chronic course evidencing about a necessity to carry out a complex antiviral and antibacterial therapy.

Key words: demyelinating diseases, herpes virus DNA, antibodies.

Адрес для корреспонденции:

Дракина Светлана Алексеевна

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.

220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 267-21-98.

Н. П. МИШАЕВА, С. А. ДРАКИНА, В. А. СТЕГНИЙ

НОВЫЕ И МАЛОИЗВЕСТНЫЕ ДЛЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ ИНФЕКЦИИ, ПЕРЕНОСИМЫЕ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Цель исследования. Изучить зараженность иксодовых клещей патогенными для человека агентами вирусной, бактериальной и протозойной природы и возможность инфицирования людей неизвестными ранее возбудителями инфекций в Республике Беларусь.

Материал и методы. Исследовано 553 клеща индивидуально и 152 клеща в пулах на наличие возбудителей клещевого энцефалита, клещевых боррелиозов и риккетсиозов, анаплазмоза, эрлихиоза, бабезиоза, туляремии, ку-лихорадки. Исследовано 97 клещей *I. ricinus*, снятых с людей, а также 124 сыворотки от больных с лихорадкой. Использованы методы ПЦР, биопробы, реакция иммунофлюоресценции.

Результаты. Установлено, что иксодовые клещи в Республике Беларусь являются переносчиками минимум 9 возбудителей инфекций человека и животных, далеких в систематическом отношении, что объясняется питанием в разные фазы развития клещей на разных видах диких животных в природных очагах инфекций, поддерживаемых иксодовыми клещами. Среди клещей выявлены особи, содержащие одновременно по 2—3 возбудителя, чаще всего боррелии с анаплазмами или риккетсиями, реже — с вирусом клещевого энцефалита. При присасывании такого мультизараженного клеща у человека может развиваться микст-инфекция с продолжительным лихорадочным периодом и тяжелым течением, что подтверждается серологическими исследованиями и клиническими наблюдениями.

Заключение. Индивидуальное исследование клещей *I. ricinus* на одновременное носительство вирусов, бактерий и простейших показало зараженность их 9 инфекционными агентами, патогенными для человека.

Ключевые слова: иксодовые клещи, патогенные агенты, клещевой риккетсиоз.

Общеизвестна роль клещей в качестве переносчиков одновременно нескольких инфекций, поражающих животных и человека: клещевого энцефалита (КЭ), иксодовых клещевых боррелиозов, эрлихиозов, бабезиоза, риккетсиозов, бартонеллеза, при этом установлено, что множественное заражение клещей возбудителями вирусной и бактериальной природы является правилом, а не исключением [1]. В Республике Беларусь до недавнего времени активно изучались только 2 клещевые инфекции: КЭ и Лайм-боррелиоз (ЛБ). В 2009 г. авторы настоящей сообщения описали новую для Республики Беларусь нозоформу — гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ) — на основании выявления анаплазм в клещах *Ixodes ricinus* и больных ГАЧ [2]. В связи с тем, что в Беларуси ежегодно в эпидемический сезон регистрируется несколько сотен не имеющих антител к КЭ, ЛБ, ГАЧ больных с лихорадкой, укушенных клещами, высказывается предположение, что иксодовые клещи белорусской популяции могут быть переносчиками возбудителей, неизвестных для нашей меди-

цинской практики инфекций, а возможно, и микст-инфекций, поскольку клещи могут заражаться разными видами возбудителей при кровососании на различных видах животных. Как полагает Э. И. Коренберг, любое заболевание, возникшее в результате присасывания клеща, следует рассматривать как потенциальную микст-инфекцию [3]. Установлено, что при микст-инфекциях наблюдается более тяжелое клиническое течение по сравнению с моноинфекциями, вплоть до летальных исходов [4].

Цель настоящей работы — изучение зараженности иксодовых клещей патогенными для человека агентами вирусной, бактериальной и протозойной природы и возможности инфицирования людей неизвестными ранее возбудителями инфекций в Республике Беларусь.

Материал и методы

Исследовали наиболее многочисленных в Республике Беларусь клещей двух видов (*Ixodes ricinus* и *Dermacentor reticulatus*) на наличие возбудителей КЭ, клещевых боррелиозов и риккетсиозов, анаплазмоза, эрлихиоза, бабезиоза, туляремии, ку-лихорадки. Всего исследовали 553 клеща индивидуально и 152 клеща — в пулах (48 пулов, по 3—5 клещей в биопробе). Кроме того, исследовали индивидуально 97 клещей *I. ricinus* разных фаз развития (самцы, самки, нимфы, личинки), снятых с людей. Использовали методы ПЦР, биопробы, реакции иммунофлюоресценции (РИФ); для обнаружения РНК вируса КЭ и ДНК анаплазм и эрлихий — метод гнездовой ПЦР и ПЦР в реальном времени, на носительство бабезий и боррелий — метод Reverse Line Blot hybridization.

Исследовали также сыворотки крови больных с лихорадкой, имевших в анамнезе укус клеща, на наличие антител к КЭ, ЛБ, ГАЧ, МЭЧ (моноцитарный эрлихиоз человека) и риккетсиозам. Всего использовано 124 сыворотки от больных, госпитализированных в инфекционные клинические больницы (ИКБ) Минска, а также доставленных из других инфекционных больниц страны (Старые дороги, Гомель, Червень, Молодечно, Могилев, Марьяна Горка, Любань, Миоры, детская ИКБ, 2-я, 5-я, 7-я и 22-я поликлиники Минска).

Результаты и обсуждение

Из 553 иксодовых клещей, исследованных индивидуально, 453 (81,9%) были собраны с растительности; 100 (18,1%) — с животных (крупный рогатый скот, собаки). Из них 327 особей принадлежали к *I. ricinus* и 226 — к *D. reticulatus*. В сборах с растительности преобладали клещи *I. ricinus* (63,8%), в сборах с животных — *D. reticulatus* (61,1%). Самки составляли 59,5% (329/553), самцы — 40,1% (222/553).

На рис. 1 представлены предварительные данные о выявлении носительства клещами возбудителей инфекций человека и животных. Как видно, иксодовые клещи в Республике Беларусь являются носителями 9 групп патогенных агентов, далеких в эволюционном отношении (вирусы, бактерии, риккетсии,

26 Проблемы эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней

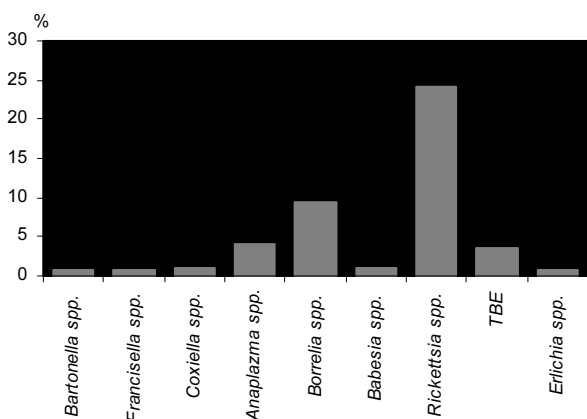


Рис. 1. Выявленные патогенные агенты в иксодовых клещах при индивидуальном обследовании методом ПЦР

простейшие). Чаще всего в клещах выявляли *Rickettsia spp.* (24,16%) и *Borrelia spp.* (9,31%), реже — возбудители ГАЧ (4,1%) и КЭ (3,5%). Кроме того, в клещах обнаружены новые и малоизвестные для здравоохранения патогенные клещевые агенты, такие как *Ehrlichia spp.* (возбудитель МЭЧ), *Coxiella spp.* (возбудитель туляремии), *Francisella spp.* (возбудитель туляремии), *Babesia spp.* (бабезиоз человека и животных), *Bartonella spp.* (возбудители бартонеллеза). Указанные инфекции, патогенные для человека, в медицинской практике Республики Беларусь не диагностируют, хотя в соседних странах они зарегистрированы и интенсивно изучаются [5—11].

Наибольшее количество зараженных клещей зарегистрировано в Брестской (50%) и Гомельской (39,7%) областях, расположенных на территории белорусского Полесья и характеризующихся более теплым климатом. Более низкая зараженность (10,5%) отмечена в Витебской области, представляющей северный регион республики (табл. 1).

Дальнейшие исследования показали, что наиболее часто носителями инфекционных агентов являются клещи *I. ricinus*, в которых обнаружены все 9 групп возбудителей. Однако среди клещей *D. reticulatus* также выявлены зараженные боррелиями, бартонеллами и риккетсиями особи, причем носительство *Rickettsia spp.* в них даже выше, чем у клещей *I. ricinus* (рис. 2).

Таблица 1

Зараженность патогенными агентами клещей

Область	Кол-во собранных клещей		Из них зараженных патогенными агентами, %	
	абс.	%	абс.	%
Брестская	82	14,8	41	50,0
Витебская	19	3,4	2	10,5
Гомельская	297	53,6	118	39,7
Гродненская	45	8,1	16	35,5
Минская	79	14,3	21	26,6
Могилевская	31	5,8	10	32,2
Всего...	553	100,0	209	

Интерес представляют данные о нападении клещей *I. ricinus* и *D. reticulatus* на человека и исследовании их на зараженность боррелиями методом нРИФ. Установлено, что за 4 года с людей снято 5177 экземпляров *I. ricinus* и 144 — *D. reticulatus*. И хотя в целом зараженность боррелиями клещей *I. ricinus* (17,6%) была в 2 раза выше, чем *D. reticulatus* (8,3%), тем не менее уровень бактериофорности лугового вида клещей, достигающий в отдельные годы до 13,5%, считается высоким.

На рис. 3 представлены сравнительные данные по выявлению патогенов в клещах разного пола. Как видно, самцы клещей, которые отличаются кратковременным питанием (укусы) и не присасываются к человеку, как это наблюдается у самок, оказались носителями боррелий, анаплазм, бартонелл, коксиелл, возбудителей туляремии и риккетсиозов. И хотя их зараженность значительно ниже, чем у самок, многократные кратковременные «укусы» могут привести к заражению человека при контакте его с природными очагами указанных инфекций.

Как видно из результатов проведенных исследований, иксодовые клещи в Республике Беларусь являются переносчиками как минимум 9 возбудителей инфекций человека и животных, далеких в систематическом отношении, что объясняется питанием в разные фазы развития клещей на разных видах диких животных в природных очагах инфекций, поддерживаемых иксодовыми клещами. При этом клещи могут заражаться сразу несколькими возбудителями инфекций, которые занимают в организме переносчиков разные ниши (кишечный тракт, слюнные железы, гемолимфа) и могут одновременно сосуществовать в организме клещей, передаваться трансфазово и трансвариально. Это подтверждается исследованиями авторов настоящей статьи. Так, среди клещей выявлены особи, содержащие одновременно по 2—3 возбудителя, чаще всего боррелии с анаплазмами или риккетсиями, реже — с вирусом КЭ. При присасывании такого «мультизараженного» клеща у человека может развиваться микст-инфекция с продолжительным периодом лихорадки и тяжелым течением, что подтверждается серологическими исследованиями и клиническими наблюдениями.

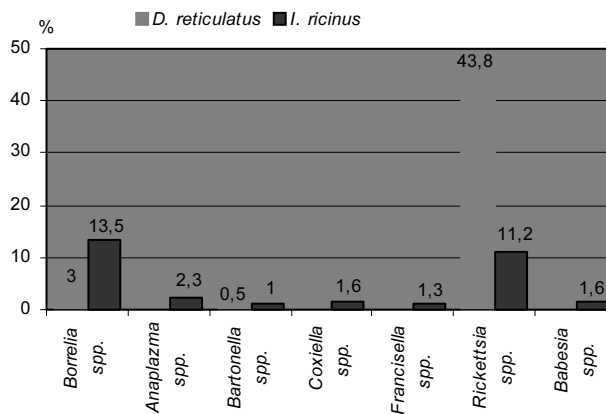


Рис. 2. Инфицированность возбудителями бактериальных и протозойных инфекций клещей *I. ricinus* и *D. reticulatus*

Серологическое исследование. За 2009—2010 гг. исследовали 124 сыворотки крови больных, имевших в анамнезе присасывание клещей. Изучали наличие антител к вирусу КЭ, ЛБ, ГАЧ, МЭЧ и риккетсиям: а) от больных с лихорадкой, имевших в анамнезе укуса клеща; б) от больных с диагнозом ЛБ; в) от хронических больных с поражением нервной системы, у которых в анамнезе были указания на присасывание клещей. Установлено, что у 35% больных выявлялись антитела к известным клещевым инфекциям, таким как КЭ, ЛБ и ГАЧ. Чаще всего обнаруживали антитела к ЛБ (62% от лиц, отмечавших присасывание клещей), реже — к ГАЧ (в среднем 12,1% больных) и КЭ (7,0%).

Ниже приведены результаты исследования сывороток больных на ГАЧ, как на недавно зарегистрированную в Республике Беларусь инфекцию. Из 124 исследованных сывороток крови больных, отмечавших присасывание клещей, антитела к ГАЧ (18,2%) чаще всего обнаруживались у хронических больных с поражением нервной системы (11 пациентов), а также у больных (52 человека), переносящих ЛБ (13,5%). У 1 больного были выявлены ранние антитела (IgM), у 3 — одновременно IgM и IgG, у остальных регистрировали только антитела IgG.

В табл. 2 представлены результаты исследования сывороток крови 15 больных, перенесших КЭ или ЛБ, на наличие антител к ГАЧ. Как видно, ранние антитела к ГАЧ (IgM) были выявлены у 4 пациентов, антитела класса IgG — у 14. Одновременно у этих же больных были выявлены антитела к ЛБ (6 больных) и к вирусу КЭ (3 человека). Для КЭ положительными считали сыворотки с титром антител 1:40; для ЛБ — 1:128 и выше; для ГАЧ — сыворотки с КС выше 1,1.

Из представленных данных можно сделать вывод, что обнаружение антител к ГАЧ составляет 11% от числа инфицированных клещей, 8% составляют ГАЧ+ЛБ, 1% представлен ГАЧ+КЭ, 3% — ГАЧ+КЭ+ЛБ. В целом число больных, у которых выявлены антитела к ГАЧ, составляет 23% от общего числа больных, заразившихся при присасывании мультизараженных иксодовых клещей. Значительно боль-

ший удельный вес составляет, как указывалось выше, ЛБ (59%) и смешанная инфекция ЛБ+КЭ (3%). В целом число больных, перенесших ЛБ в виде моно- или микст-инфекций, составляет 62% от числа больных с клещевыми инфекциями. Кроме того, у 15 больных были обнаружены антитела к 2—3 инфекциям: 8 из них перенесли вирусно-бактериальную микст-инфекцию КЭ+ЛБ, при этом 1 случай закончился летально, 6 — смешанную бактериальную ЛБ+ГАЧ, у 1 больного зарегистрирована КЭ+ГАЧ, у 2, как указывалось выше, — тройная инфекция (КЭ+ЛБ+ГАЧ). Установлено, что КЭ в сочетании с ЛБ протекает более тяжело: отмечалась продолжительная лихорадка, более интенсивная головная боль, сопровождавшаяся рвотой. Что касается сочетанной инфекции ЛБ+ГАЧ, то клинических особенностей не было выявлено. Возможно, это обусловлено тем, что и первая и вторая инфекции являются бактериальными и лечение антибиотиками предотвращало осложнения.

Особый интерес представляет больной, перенесший после присасывания клеща риккетсиозную инфекцию.

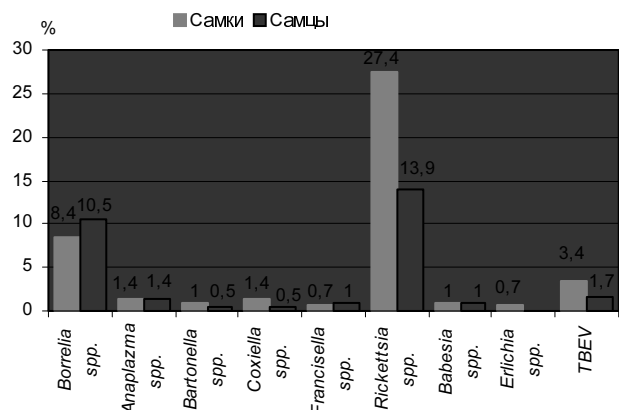


Рис. 3. Инфицированность самок и самцов клещей патогенными для человека возбудителями инфекций

Таблица 2

Результаты исследования сывороток крови больных, перенесших КЭ или ЛБ, на антитела к ГАЧ

Регистрационный номер сыворотки	Титр IgG к КЭ	Титр IgG к ЛБ	Коэффициент серопозитивности антител к ГАЧ	
			IgM	IgG
152	Отриц.	Отриц.	Отриц.	Положит.
355	Отриц.	Отриц.	Отриц.	Положит.
356	Отриц.	Отриц.	Отриц.	Положит.
461	Отриц.	Отриц.	Положит.	Положит.
477	Отриц.	Положит.	Отриц.	Положит.
492	Положит.	Положит.	Отриц.	Положит.
517	Отриц.	Отриц.	Отриц.	Положит.
1367	Положит.	Отриц.	Отриц.	Положит.
1376	Отриц.	Положит.	Положит.	Положит.
1390	Отриц.	Отриц.	Положит.	Отриц.
1487	Отриц.	Отриц.	Отриц.	Положит.
1498	Отриц.	Отриц.	Положит.	Положит.
1536	Положит.	Положит.	Отриц.	Положит.
1641	Отриц.	Положит.	Отриц.	Положит.
1718	Отриц.	Положит.	Отриц.	Положит.

Ребенок К. И., 4 года. Присосавшийся клещ был обнаружен 23.05.2011 в подколенной ямке. В месте укуса развилась гиперемия, которая через сутки исчезла. На 17-й день (8.06.2011) после укуса повысилась температура тела до 38,5°C, через сутки появились катаральные явления и наблюдалось неадекватное поведение в течение 3 мин (проснулся с испугом, криком, дрожанием и не узнавал мать). Ночью (с 9.06. на 10.06.2011) подобный эпизод повторился, но был короче по времени. 10.06.2011 осмотрен инфекционистом: выявлена гиперемия слизистых, лимфоаденопатия (затылочные, надключичные, подмышечные, паховые узлы увеличены до 0,5 см), при пальпации безболезненные. В крови — лейкопения с лимфоцитозом. 11.06.2011 на фоне субфебрильной температуры появилась сыпь сначала на лице с распространением на туловище с большей концентрацией в области лимфоузлов. 12.06.2011 температура нормализовалась. Сыпь побледнела на лице и появилась на проксимальных отделах конечностей, на туловище стала яркой пятнисто-папулезной. 13.06.2011 сыпь стала исчезать. В крови лейкоцитоз с лимфоцитозом. Печень и селезенка увеличены. 14.06.2011 повторился эпизод неадекватности поведения с галлюцинациями. Ребенок был госпитализирован в детскую инфекционную клиническую больницу. При осмотре неврологом: оглушен, очаговой симптоматики не выявлено. В крови методом ПЦР обнаружена ДНК *Rickettsia* spp. Проведена антибактериальная и симптоматическая терапия. 28.06.2011 выписан в удовлетворительном состоянии. Через месяц осмотрен неврологом: здоров.

Таким образом, в Республике Беларусь, кроме активно изучаемых КЭ и ЛБ, зарегистрированы больные, инфицированные при укусе клеща возбудителями анаплазмоза и риккетсиоза человека, характеризующимися, по литературным данным, длительной лихорадкой и тяжелым течением, особенно при сочетании их с КЭ и ЛБ. Выявление среди иксодовых клещей особей, зараженных бабезиями, бартонеллами, возбудителем туляремии и др. резко меняет представления об этиологическом спектре болезней, возникающих после укуса иксодовых клещей, и делает риск заражения человека микст-инфекцией важной практической проблемой, требующей всестороннего изучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и при участии Анна L. Reye (Институт иммунологии, Люксембург), за что авторы выражают им глубокую благодарность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев А. Н., Дубинина Е. В., Юшкова О. В. Функционирование паразитарной системы в условиях усиливающегося антропогенного пресса.—СПб., 2008.
2. Мишаева Н. П., Протас И. И., Щерба В. В. // *Здравоохранение*.— 2010.— № 11.— С. 19—21.
3. Korenberg E. I. // *Int. J. Med. Microbiol.*— 2004.— Vol. 293 (Suppl. 37).— P. 80—85.
4. Вельгин С. О., Дракина С. А., Щерба В. В., Протас И. И. // *Журн. эпидемиологии и инфекционных болезней*.— 2007.— № 3.— С. 38—41.
5. Малеев В. В. // *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапия*.— 2005.— Т. 7, № 2.— С. 130—142.
6. Stanczak J., Racewicz M., Michalik J., Buczek A. // *Int. J. Med. Microbiol.*— 2008.— Vol. 298.— P. 231—234.
7. Stanczak J. // *Int. J. Med. Microbiol.*— 2006.— Vol. 296 (Suppl. 40).— P. 144—148.
8. Smetanova K., Schwarzova K., Kocianova E. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*— 2006.— Vol. 1078.— P. 312—315.
9. Spitalska E., Kocianova E. // *Eur. J. Epidemiol.*— 2003.— Vol. 18.— P. 263—266.
10. Radzijeuskaja J., Paulauskas A., Rosef O. // *Int. J. Med. Microbiol.*— 2008.— Vol. 298.— P. 218—221.
11. Rar V. A., Fomenko N. V., Dobrotvorsky A. K., et al. // *Emerg. Infect. Dis.*— 2005.— Vol. 11.— P. 1708—1715.

Поступила 26.06.12.

INFECTIOUS TRANSMITTED BY IXODES RICINUS UNKNOWN OR UNFAMILIAR IN THE REPUBLIC OF BELARUS

N. P. Mishayeva, S. A. Drakina, V. A. Stegny

Objective. Studying of ixodes ricinus contamination with viral agents, bacterial, and protozoa agents pathogenic for human beings and of possibility of infecting people with agents causing infections not separated in the Republic of Belarus earlier was the purpose of the research.

Materials and methods. Five hundred and fifty three ixodes ricinus were examined individually and 152 ones within the pools for detecting pathogenic agents causing tick-borne encephalitis, tick-borne borreliosis and rickettsiosis, anaplasmosis, ehrlichiosis, babesiosis, tularemia, Q-fever. Ninety seven *I. ricinus* picked off subjects as well as 124 serum samples of patients with fever were studied. While studying PCR, biotests, reaction of immunofluorescence were used.

Results. *I. ricinus* were determined to transmit at least nine pathogenic agents causing human and animal infections in the Republic of Belarus. The infections could not be classified because of differing nutrition of ticks at different development phases on various species of animals in the natural foci of infection supported by *I. ricinus*. Among the ticks, individuals bearing 2—3 pathogenic agents at a time were detected, most often they were borrelia accompanied by anaplasms or rickettsia, rarer with virus causing tick-borne encephalitis. When such a multi-infected tick has sucked to a human being a mixed infection accompanied by a prolonged fever period and with a severe course can develop — it is confirmed by serological and clinical observations.

Conclusion. The *I. ricinus* individual examination for viruses, bacteria, and protozoa concurrent carriage showed that they are infected by nine agents pathogenic for human beings.

Key words: ixodes ricinus, pathogenic agents, tick-borne rickettsiosis.

Адрес для корреспонденции:

Мишаева Нина Павловна.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.

220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 263-31-40.

Т. В. АМВРОСЬЕВА, Н. В. ПОКЛОНСКАЯ,
П. И. ГРИНКЕВИЧ, З. Ф. БОГУШ, Е. П. КИШКУРНО,
О. В. КАЛАЧИК, А. Н. ХИЛО, О. Н. КАЗИНЕЦ

ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии Минздрава Республики Беларусь, Белорусская медицинская академия последипломного образования, РНПЦ трансплантации органов и тканей на базе 9-й городской клинической больницы Минска

Цель исследования. Изучить особенности развития и течения вирусных инфекций у пациентов после трансплантации почки с анализом серологического статуса реципиентов и их доноров.

Материал и методы. Проведены исследования 168 образцов крови у 56 пациентов: 36 — реципиенты почки без клинических проявлений инфекции; 20 — доноры почки. Маркерами инфекции были антивирусные IgM и IgG, а также ДНК цитомегаловируса, вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типа, вируса Эпштейна—Барр, вируса герпеса человека 6-го типа, парвовируса В19.

Результаты. Установлено, что абсолютное большинство обследованных реципиентов (более 90%) относились к группам среднего и высокого риска развития посттрансплантационных осложнений, вызванных вирусами герпетической группы. У пациентов в посттрансплантационный период наиболее часто наблюдалась реактивация цитомегаловирусной инфекции, сопровождавшаяся длительной вiremией (более 1 мес) у 50% реципиентов, реже регистрировали реактивацию инфекций, вызванных вирусом Эпштейна—Барр, вирусом герпеса человека 6-го типа и парвовирусом В19, тогда как вирусы простого герпеса 1-го и 2-го типа не были выявлены. Виремия, вызванная вирусом Эпштейна—Барр, вирусом герпеса человека 6-го типа и парвовирусом В19, у большей части реципиентов носила транзитный характер и спонтанно элиминировалась в течение 2 нед —1 мес.

Заключение. Показана нецелесообразность использования IgM в качестве маркеров при диагностике цитомегаловирусной инфекции в посттрансплантационный период в связи с отсутствием у них как диагностической, так и прогностической значимости.

Наблюдение за динамикой развития инфекционных процессов до появления клинических признаков инфекции у пациентов позволяет предотвратить посттрансплантационные осложнения за счет своевременного назначения этиотропного лечения и коррекции иммуносупрессивной терапии.

Ключевые слова: трансплантация почки, вирусная инфекция, вирус простого герпеса, цитомегаловирус, вирус Эпштейна—Барр, вирус герпеса человека 6-го типа, парвовирус В19.

Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в последние десятилетия в области трансплантологии, инфекционные осложнения продолжают оставаться серьезной проблемой: они существенно ухудшают качество и снижают продолжительность жизни пациентов. По данным зарубежных специалистов, только в течение 1-го года после трансплантации почки инфекционные осложнения регистрируются у 2/3 реципиентов [1]. Среди этиологических агентов посттрансплантационных осложнений значительную роль играют вирусы. Так, по результатам разных исследо-

ваний, доля пациентов с инфекцией, вызванной цитомегаловирусом (ЦМВ), среди реципиентов почки составляет 8—32%, вирусом простого герпеса (ВПГ) — до 53%, вирусом варицеллы зостер (ВВЗ) — 4—12% [2]. Существенный вклад вносят и другие вирусные агенты: вирус Эпштейна—Барр (ВЭБ), ВК-полиомавирус, аденовирус, парвовирус В19, вирус герпеса человека (ВГЧ) 6-го типа и некоторые другие [3].

Причиной осложнений вирусной этиологии у пациентов после трансплантации органов может быть не только посттрансплантационное инфицирование, но и реактивация присутствующих в организме вирусов, существующих ранее в латентной, неактивной форме. Данные патогены, как правило, не вызывают болезни у людей с нормальной иммунной системой, но могут стать причиной развития так называемых оппортунистических инфекций у лиц с иммунодефицитным состоянием, которое характерно для реципиентов почки на фоне применяемой иммуносупрессивной терапии [2]. К этиологическим агентам оппортунистических вирусных инфекций, в первую очередь, следует отнести вирусы герпетической группы (ВПГ 1-го и 2-го типа, ЦМВ, ВВЗ, ВЭБ, ВГЧ 6-го и 8-го типа). В отношении этой группы возбудителей разработаны и успешно применяются препараты этиотропной терапии, используемые, в том числе, и для профилактики осложнений в посттрансплантационный период [4]. Раннее специфическое антивирусное лечение позволяет предотвратить развитие тяжелых инфекционных осложнений у реципиентов [5, 6]. Во избежание избыточной лекарственной нагрузки назначение подобных препаратов должно основываться на результатах лабораторного вирусологического обследования пациентов.

В настоящее время существует несколько методов лабораторной диагностики инфекций герпетической группы. Они направлены на выявление определенных маркеров инфекции и имеют различную диагностическую и прогностическую значимость в зависимости от формы и стадии инфекционного процесса. В связи с этим весьма важным для практики направлением исследований является анализ и оценка эффективности разных методов вирусологического обследования реципиентов в посттрансплантационный период, а также изучение кинетики развития инфекционного процесса для своевременного назначения адекватной этиопатогенетической терапии с целью профилактики и/или устранения тяжелых посттрансплантационных осложнений.

Целью настоящей работы было изучение особенностей развития и течения вирусных инфекций у пациентов после трансплантации почки с анализом серологического статуса реципиентов и их доноров.

Материал и методы

Исследовано 168 образцов крови, взятых у 56 пациентов, составивших 2 группы: 36 реципиентов почки без клинических проявлений инфекции (148 образцов) и 20 доноров почки (20 образцов). Клинический материал был получен из РНПЦ трансплантации органов и тканей на базе 9-й городской клинической

больницы Минска и исследованы серологическим и молекулярно-генетическим методами в отношении клинически значимых в посттрансплантационный период вирусных агентов: ЦМВ, ВПГ 1-го и 2-го типа, ВЭБ, ВГЧ 6-го типа, парвовирус В19.

Образцы цельной крови инкубировали 1 ч при температуре 37°C, затем центрифугировали при 1500 об./мин в течение 10 мин, после чего отбирали сыворотку.

Для определения серологического статуса донора и реципиента в отношении 3 актуальных вирусных инфекций (ЦМВ, ВЭБ, ВПГ 1-го и 2-го типа) выявляли IgG к их возбудителям. Для оценки раннего иммунного ответа на реактивацию ЦМВ-инфекции определяли наличие соответствующих антицитомегаловирусных IgM. Серологические исследования осуществляли методом ИФА с использованием тест-системы производства «Вектор-Бест» (Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Для выделения вирусных нуклеиновых кислот из сыворотки крови применяли коммерческие наборы «РНК-СОРБ» (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Российская Федерация), из цельной крови — набор «ДНК-сорб В» (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Российская Федерация).

Амплификацию нуклеиновых кислот ВПГ, ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ 6-го типа, ВВЗ проводили с помощью коммерческих тест-систем производства ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Российская Федерация) в соответствии с инструкцией производителя. Постановку реакции с электрофоретическим учетом результатов осуществляли на ПЦР-амплификаторе «mjMini» («BioRad», США). Результаты реакции учитывали с помощью горизонтального электрофореза в агарозном геле. Для постановки ПЦР в реальном времени применяли амплификаторы «RotorGene» 3000 и 6000 («Corbett Life Sciences», Австралия).

Результаты и обсуждение

Серологический статус реципиентов и доноров почки. При проведении лабораторного обследования доноров и реципиентов перед трансплантацией одним из рутинных лабораторных исследований является установление серологического статуса пары донор/реципиент (Д/Р) в отношении наиболее значимых вирусных агентов герпетической группы (ЦМВ, ВЭБ, ВПГ 1-го и 2-го типа). Необходимость проведения подобных исследований обусловлена существованием риска развития инфекционных посттрансплантационных осложнений у реципиентов в зависимости от серологического статуса образовавшейся пары. Отсутствие антител класса G у донора и реципиента (Д-/Р-) позволяет отнести последнего к группе низкого риска развития посттрансплантационных осложнений (с высокой долей вероятности ни донор, ни реципиент не являются носителями вируса, поэтому можно не ожидать реактивации инфекции у реципиента в посттрансплантационный период).

Группу среднего риска составляют реципиенты из пар Д+/Р+ и Д-/Р+. Такой серологический статус указывает на наличие инфекции в организме реципиента, соответственно существует возможность ее про-

явления или реактивации в посттрансплантационный период. Положительным моментом для таких пациентов является наличие у них противовирусных антител, обеспечивающих определенный уровень защиты от инфекции.

Реципиенты из пар Д+/Р- образуют группу высокого риска при проведении трансплантации, что обусловлено отсутствием в их организме защитных противовирусных антител, что создает условия для высокой вероятности их инфицирования при пересадке органа от вирусопозитивного донора [7, 8]. Таким образом, определение серологического статуса реципиента и донора в отношении конкретной вирусной инфекции перед трансплантацией позволяет прогнозировать вероятность развития вирусных осложнений после операции и в случае необходимости вовремя назначать профилактическую антивирусную терапию. Такой мониторинг особенно оправдан для скрининга актуальных герпетических вирусных инфекций, для лечения которых созданы специфические этиотропные средства.

Результаты оценки серологического статуса обследованных в отношении ЦМВ, ВЭБ и ВПГ 1-го и 2-го типа свидетельствовали о высокой доле серопозитивных пациентов как в группе доноров, так и среди реципиентов (рис. 1). Так, IgG к ВПГ 1-го и 2-го типа обнаружены у 98,2% обследованных (у доноров — 100%, у реципиентов — 97,2%), к ВЭБ — у 92,8% (у 85,0% и 97,2% соответственно), к ЦМВ — у 94,6% (у 95% и 94,4% соответственно). Полученные результаты полностью подтверждаются имеющимися литературными данными, согласно которым доля серопозитивных пациентов составляет 70—95% в зависимости от возрастной группы, пола, социально-экономического статуса [9—11].

При анализе серологического статуса пар Д/Р в отношении каждого из возбудителей оказалось, что абсолютное большинство реципиентов по данному критерию относили к группе среднего риска для всех детектируемых патогенов (рис. 2). Так, в отношении ЦМВ этой группе принадлежало 95,4% реципиентов (86,4% Д+/Р+, 9% Д-/Р+), в отношении ВЭБ — 100% (94,5% Д+/Р+, 5,5% Д-/Р+), в отношении ВПГ 1-го и 2-го типа — 94,5% (все — Д+/Р+). Только небольшая часть пациентов относилась к группе высокого риска (Д+/Р-): в отношении ЦМВ — 9% обследованных, ВПГ 1-го и 2-го типа — 5,5%. Пациентов, относящихся к группе низкого риска (Д-/Р-), не выявлено.

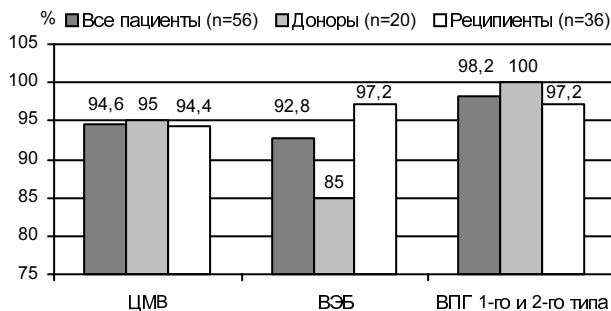


Рис. 1. Частота выявления IgG к ЦМВ, ВЭБ и ВПГ 1-го и 2-го типа

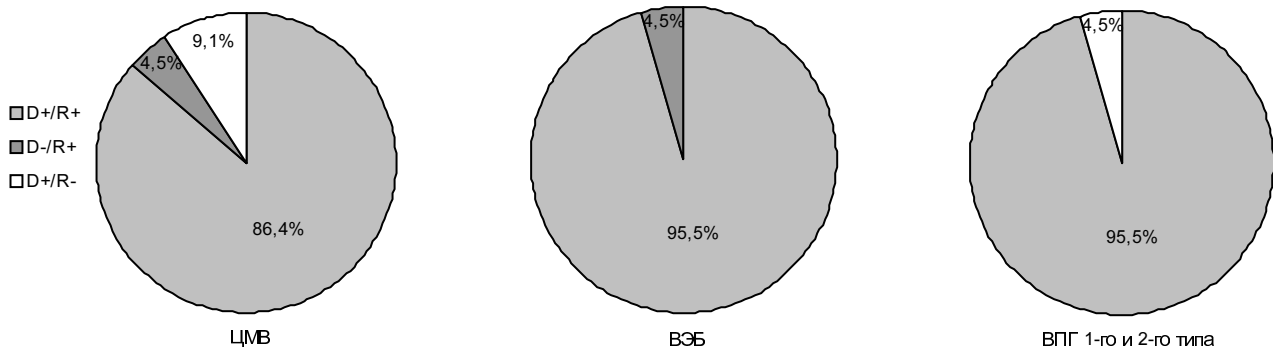


Рис. 2. Распределение пар Д/Р в зависимости от их серологического статуса:
+ — серопозитивный, - — серонегативный

Впоследствии проведен анализ частоты и сроков развития виремии у реципиентов групп среднего и высокого риска. Полученные результаты показали, что у 42,1% реципиентов группы среднего риска по ЦМВ-инфекции наблюдалось развитие виремии (по выявлению ДНК ЦМВ в сыворотке крови) в течение первых 3 мес посттрансплантационного периода, в том числе у реципиента из пары Д-/Р+ — на 56-е сутки после трансплантации. У одного из реципиентов группы высокого риска (Д+/Р-) наблюдалось раннее развитие виремии уже на 28-е сутки после операции. Анализ кинетики реактивации ВЭБ-инфекции выявил развитие виремии у 19% реципиентов из группы среднего риска с серологическим статусом Д+/Р+. У реципиента с серостатусом Д-/Р+ виремия в течение первых 3 мес не регистрировалась.

Очевидно, что в отношении герпетических инфекций абсолютное большинство реципиентов почки относились к группам среднего и высокого риска развития посттрансплантационных осложнений, что диктует необходимость назначения соответствующей противовирусной терапии с целью профилактики возможных вирусных осложнений. При этом реципиенты из группы высокого риска в посттрансплантационный период должны быть подвергнуты наиболее тщательному лабораторному и клиническому наблюдению с обязательным индивидуальным консультированием врача-инфекциониста.

Реактивация вирусных инфекций у реципиентов почки и оценка их иммунного ответа. Для изучения реактивации латентных вирусных инфекций у пациентов после трансплантации по мере нарастания уровня иммуносупрессии проводили повторные обследования методом ПЦР в отношении наиболее клинически значимых возбудителей вирусных инфекций: ЦМВ, ВЭБ, ВПГ 1-го и 2-го типа, ВГЧ 6-го типа, парвовируса В19. Образцы крови реципиентов забирали на 1-е, 4-е и 14-е сутки после трансплантации, в дальнейшем — через каждый месяц. В качестве маркера наличия активной вирусной инфекции выступала ДНК возбудителей, определяемая в образцах крови методом ПЦР. Обследовали 25 пациентов. В результате проведенных исследований установлено, что в первые 2 нед после трансплантации генетические маркеры вирусных инфекций практически не выявлялись (рис. 3). Существенный рост положитель-

ных проб регистрировали на 14-е сутки после трансплантации, когда ДНК детектируемых вирусов обнаружили у 25% обследованных реципиентов. В течение последующих 1,5 мес отмечался дальнейший рост числа реципиентов с генетическими маркерами, указывающими на реактивацию у них оппортунистических вирусных инфекций. Пик реактивации вирусных инфекций регистрировали спустя 2 мес после трансплантации. В этот период ДНК-маркеры выявляемых возбудителей обнаруживали у 73,3% реципиентов. Спустя 3 мес после трансплантации доля пациентов с той или иной активной вирусной инфекцией несколько снижалась (до 60,0%).

Анализ кинетики реактивации отдельных вирусных инфекций в зависимости от типа возбудителя выявил существенные различия. Начало реактивации ЦМВ-инфекции регистрировали только спустя 1 мес после трансплантации (у 20% обследованных), ко 2-му месяцу она достигала пика (рис. 4). В это время ДНК ЦМВ обнаружили в сыворотке крови у 53% обследованных. Через 3 мес после трансплантации доля пациентов с активной ЦМВ-инфекцией несколько снизилась (до 45,5%).

Кинетика реактивации ВЭБ-инфекции у реципиентов была принципиально иной (рис. 5). У небольшой части (5,2%) ДНК ВЭБ обнаруживали уже в 1-е сутки после трансплантации, затем, по мере нарастания иммуносупрессии, имело место поступательное увеличение доли пациентов с активной ВЭБ-инфекцией.



Рис. 3. Кинетика реактивации латентных вирусных инфекций у реципиентов почки

32 Проблемы эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней



Рис. 4. Кинетика реактивации ЦМВ-инфекции у реципиентов почки в течение 3 мес после трансплантации



Рис. 5. Кинетика реактивации ВЭБ-инфекции у реципиентов почки в течение 3 мес после трансплантации

Однако у большинства реципиентов (55,5%) наступала кратковременная реактивация инфекции, при повторных исследованиях спустя 2 нед ДНК возбудителя не выявляли. При этом следует отметить, что присутствие ДНК-маркеров ВЭБ наблюдали у 16,6% доноров. Однако среди реципиентов ВЭБ-инфекцию регистрировали только у 20%, обнаруживали транзитное присутствие ДНК ВЭБ.

Транзитный тип реактивации вирусных инфекций был характерен и для других диагностируемых по клиническим показаниям инфекций. Так, генетические маркеры парвовируса В19 и ВГЧ 6-го типа выявлены лишь однажды — спустя 14 сут и 2,5 мес после трансплантации соответственно (рис. 6). При повторных исследованиях в течение 3 мес ДНК этих вирусов у реципиентов не обнаруживали.

Представленные данные о кинетике реактивации в посттрансплантационный период ряда вирусных инфекций однозначно указывают на тот факт, что наибольшую клиническую значимость для реципиентов имеет ЦМВ-инфекция, которая может периодически и неоднократно обостряться. Именно в таких условиях протекал посттрансплантационный период у 53% наблюдаемых реципиентов почки. С учетом этих результатов проведены исследования по изучению раннего иммунного ответа реципиентов на реактивацию ЦМВ-инфекции. В качестве маркера раннего иммунного ответа были выбраны IgM к ЦМВ, содержание

которых определяли в сыворотке крови. Исследования проводили у 26 реципиентов, у которых наблюдали реактивацию ЦМВ-инфекции, сопровождающуюся виремией, о чем свидетельствовало присутствие ДНК ЦМВ в сыворотке крови.

Полученные результаты выявили наличие раннего иммунного ответа на инфекцию (присутствие IgM к ЦМВ) у 23,1% обследованных. У абсолютного большинства (76,9% пациентов) ранний иммунный ответ в отношении ЦМВ-инфекции отсутствовал, что можно объяснить применением иммуносупрессивной терапии.

Для оценки возможности использования антицитомегаловирусных IgM в качестве маркера при лабораторной диагностике посттрансплантационных осложнений проведен сравнительный анализ длительности виремии у реципиентов с наличием (1-я группа) и отсутствием (2-я группа) раннего иммунного ответа на ЦМВ (рис. 7). У 55% реципиентов из 2-й группы имело место неоднократное выявление ДНК ЦМВ в крови на протяжении более 1 мес. Длительная виремия была характерна также и для подавляющего большинства пациентов из 1-й группы (83,3%). Транзитное присутствие ДНК ЦМВ, указывающее на быструю элиминацию вируса иммунной системой, выяв-



Рис. 6. Выявление ДНК ВГЧ 6-го типа и парвовируса В19 у реципиентов почки в течение 3 мес после трансплантации

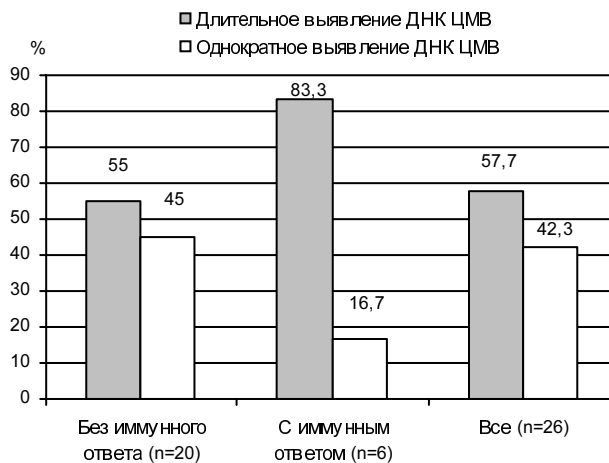


Рис. 7. Частота выявления транзитной и длительной ЦМВ-виремии у реципиентов с наличием и отсутствием серологических маркеров раннего иммунного ответа

ляли у 16,7% и 45% у пациентов из 1-й и 2-й групп соответственно. Отсутствие связи между вирусемией и обнаружением в крови антицитомегаловирусных IgM указывает на низкую диагностическую значимость последних, как лабораторных показателей наличия активной ЦМВ-инфекции у реципиентов почки на фоне проводимой иммуносупрессивной терапии.

Полученные результаты четко указывают на невозможность использования IgM к ЦМВ ни в качестве маркера реактивации инфекции (у большинства пациентов с вирусемией IgM к ЦМВ не выявляли), ни в качестве прогностического маркера, позволяющего оценить скорость элиминации вируса (присутствие IgM не влияло на длительность вирусемии). Эти данные диктуют необходимость продолжения исследований по определению количественного содержания и интенсивности нарастания титров других классов иммуноглобулинов для комплексной оценки серологического статуса и прогнозирования тяжести течения ЦМВ-инфекции у реципиентов.

Динамичное наблюдение за развитием инфекционных процессов у пациентов после трансплантации почки до появления у них клинических признаков инфекции имеет исключительно важное значение для формирования перечня диагностически значимых показателей, позволяющих не только установить этиологию вирусных осложнений, но и предотвратить их развитие за счет комплексной оценки инфекционного и серологического статуса пациентов с целью своевременного назначения этиотропного лечения и коррекции иммуносупрессивной терапии.

Выводы

1. Абсолютное большинство обследованных реципиентов (более 90%) относились к группам среднего и высокого риска развития посттрансплантационных осложнений, вызванных вирусами герпетической группы.

2. Доминирующим возбудителем вирусных осложнений, реактивация которого наиболее часто наблюдалась в посттрансплантационный период, был цитомегаловирус; активная цитомегаловирусная инфекция у значительной части реципиентов сохранялась в течение длительного (более 1 мес) периода, не сопровождаясь при этом выраженными клиническими проявлениями.

3. Среди других возбудителей активной вирусной инфекции у реципиентов в посттрансплантационный период регистрировали вирус Эпштейна—Барр, вирус герпеса человека 6-го типа и парвовирус В19; вирус простого герпеса 1-го и 2-го типа не был выявлен ни у одного из реципиентов в течение первых 3 мес после трансплантации.

4. Инфекция, вызванная вирусом Эпштейна—Барр, вирусом герпеса человека 6-го типа и парвовирусом В19, у большей части реципиентов после трансплантации носила транзиторный характер и спонтанно элиминировалась в течение 2 нед — 1 мес.

5. Использование IgM в качестве ранних серологических маркеров при диагностике цитомегаловирусной инфекции в посттрансплантационный период не-

целесообразно в связи с отсутствием у них как диагностической, так и прогностической значимости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Maraha B., Bonten H., van Hooff H., et al. // *Clin. Microbiol. Infect.*— 2001.— Vol. 7.— P. 619—625.
2. Munoz P., Fernandez N., Farinas M. // *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.*— 2012.— Vol. 30.— P. 10—18.
3. Weikert B., Blumberg E. // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*— 2008.— Vol. 3, suppl. 2.— P. 76—86.
4. Khoury J. A., Storch G. A., Bohl D. L., et al. // *Am. J. Transplant.*— 2006.— Vol. 6.— P. 2134—2143.
5. Perrine S. P., Hermine O., Small T. F., et al. // *Blood.*— 2007.— Vol. 109.— P. 2571—2578.
6. Gautam A., Fischer S. A., Yango A. F., et al. // *Int. Immunopharmacol.*— 2006.— Vol. 6.— P. 2023—2026.
7. Fishman J. A. // *N. Engl. J. Med.*— 2007.— Vol. 357.— P. 2601—2614.
8. Shnitzler M. A., Lowell J. A., Hardinger K. L., et al. // *Am. J. Transplantation.*— 2003.— Vol. 3.— P. 445—451.
9. Enders G., Daiminger A., Lindemann L., et al. // *Med. Microbiol. Immunol.*— 2012.— unpubl.
10. Staras S. A., Dollard S. C., Radford K. W., et al. // *Clin. Infect. Dis.*— 2006.— Vol. 43, № 9.— P. 1143—1151.
11. Cannon M. J., Schmid D. S., Hyde T. B. // *Rev. Med. Virol.*— 2010.— Vol. 20, № 4.— P. 202—213.

Поступила 24.07.12.

VIRAL INFECTIONS IN PATIENTS HAVING UNDERGONE KIDNEY TRANSPLANTATIONS

T. V. Amvrosieva, N. V. Poklonskaya, P. I. Grinkevich, Z. F. Bogush, E. P. Kishkurno, O. V. Kalatchik, A. N. Khilo, O. N. Kazinets

Objective. Characterization of the viral infection development and course in patients having undergone kidney transplantations and analysis of the recipients' and donors' serological status were the purpose of the study.

Materials and methods. One thousand and sixty eight blood samples of 56 patients: kidney recipients demonstrating no infection signs (36 persons) and kidney donors (20 subjects) were investigated. Antiviral IgM and IgG as well as cytomegalovirus, herpes simplex viruses types 1 and 2, Epstein—Barr virus, human herpes virus type 6, parvovirus B19 DNAs were the infection markers detected.

Results. The absolute majority of the patients examined (over 90%) were determined to refer to groups of a moderate or a large risk for the post-transplantation complications development due to herpes virus group. The cytomegalovirus infection reactivation accompanied by a long time (for more than 1 month) viremia was observed during the post-transplantation period most often — in 50% of recipients, infections caused by Epstein—Barr virus, human herpes virus type 6, and parvovirus B19 were registered rarer whereas herpes simplex viruses types 1 and 2 were not found. Viremia caused by Epstein—Barr virus, human herpes virus type 6, and parvovirus B19 was transitory in most recipients and it was eliminated spontaneously within 2 weeks — 1 month.

Conclusion. It has been shown that it is irrational to use IgM as a marker while diagnosing cytomegalovirus infection in the post-transplantation period as they lack both the diagnostic and the prognostic significance. The infectious process development dynamics observation before the infection clinical signs become evident allows prevent post-transplantation complications thanks to the etiotropic treatment assignment and the immunity suppressing therapy correction in a due time.

Key words: kidney transplantation, viral infection, herpes simplex virus, cytomegalovirus, Epstein—Barr virus, human herpes virus type 6, parvovirus B19.

Адрес для корреспонденции:

Амвросьева Тамара Васильевна.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.

220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 265-08-97.

О. Н. КАЗИНЕЦ, Т. В. АМВРОСЬЕВА,
Н. В. ПОКЛОНСКАЯ, А. Н. ХИЛО,
П. И. ГРИНКЕВИЧ, З. Ф. БОГУШ

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ РУТИННОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ПЕРЕДАВАЕМЫХ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Минздрава Республики Беларусь

Представлены результаты применения полимеразной цепной реакции в диагностике заболеваний, передаваемых половым путем, у пациентов Минского региона в отношении широкого спектра бактериальных и вирусных возбудителей. Наиболее часто регистрировали *Gardnerella* и *Ureaplasma urealyticum* (45,9% и 15,3% соответственно). Среди вирусных патогенов доминировали так называемые вирусы папилломы человека с высоким канцерогенным риском (28,5%). Полученные данные подтверждают целесообразность использования полимеразной цепной реакции в качестве эффективного рутинного метода экспресс-диагностики заболеваний, передаваемых половым путем.

Ключевые слова: заболевания, передаваемые половым путем; бактериальные и вирусные возбудители; полимеразная цепная реакция.

Заболевания, передаваемые половым путем (ЗППП), представляют сегодня серьезную проблему здравоохранения во всем мире [1]. По данным ВОЗ, в последние годы их распространенность увеличивается [2]. Учитывая возможность развития тяжелых осложнений урогенитальных заболеваний и их влияние на репродуктивное здоровье населения, особое значение придается экспресс-диагностике. Она позволяет быстро и точно выявить этиологический агент, что поможет назначить адекватное лечение, а также своевременно принять профилактические меры для предотвращения распространения ЗППП в человеческой популяции. Схожесть клинических проявлений ЗППП, этиологической причиной которых является широкий спектр бактериальных и вирусных патогенов, указывает на необходимость применения лабораторных методов диагностики, обладающих универсальностью, высокой чувствительностью и специфичностью. Этим критериям соответствует полимеразная цепная реакция (ПЦР), позволяющая достаточно быстро и эффективно выявлять генетический материал возбудителей непосредственно в исследуемых клинических образцах пациента [3].

В настоящей работе представлены результаты ПЦР-диагностики ЗППП у пациентов Минского региона в отношении широкого спектра бактериальных (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella*) и вирусных (вирус простого герпеса 1-го, 2-го типа, вирус папилломы человека, цитомегаловирус) возбудителей.

Материал и методы

Диагностику осуществляли методом ПЦР с использованием диагностических наборов производства

«Амплисенс» (Россия). Исследования проводили с января 2010 г. по декабрь 2011 г. Всего было выполнено 4240 анализов (обследованы 3949 женщин и 291 мужчина). В качестве биологического материала использовали соскобы из цервикального канала и уретры, взятые у пациентов с различными заболеваниями урогенитального тракта воспалительного характера (с подозрением на ЗППП), посещавших Республиканский центр медицинской реабилитации и бальнеолечения (Минск).

Результаты и обсуждение

Средний уровень положительных проб на наличие генетических маркеров детектируемых бактериальных возбудителей у пациентов с подозрением на ЗППП составил 7,3% (табл. 1). Данный показатель в течение 2010—2011 гг. оставался стабильным (7,54 и 7,14 соответственно), что было характерным для всего спектра выявляемых бактериальных агентов.

Среди выявленных бактериальных возбудителей наиболее часто регистрировали *Gardnerella* (45,9%) и *Ureaplasma urealyticum* (15,33%). *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis* и *Chlamydia trachomatis* определяли достаточно редко — в пределах 3,1—4,93%. При сравнении полученных показателей среди мужчин и женщин оказалось, что общий уровень выявления генетического материала бактериальных патогенов у мужчин был несколько выше (9,8%), чем у женщин (7,02%) (табл. 2). Процент выявленных положительных проб в отношении отдельных возбудителей примерно совпадал в обеих группах обследованных, за исключением таковых при определении *Mycoplasma genitalium* и *Gardnerella*. Уровень выявления микоплазмы был значительно выше среди мужчин, гарднереллы — среди женщин.

Таблица 1

Результаты исследования на наличие генетического материала бактериальных агентов в 2010—2011 гг.

Возбудитель	Кол-во анализов	Положительные пробы	
		абс.	%
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1297	64	4,93
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	411	63	15,33
<i>Mycoplasma genitalium</i>	419	13	3,10
<i>Trichomonas vaginalis</i>	252	10	3,97
<i>Gardnerella</i>	61	28	45,90
Всего...	2440	178	7,30

Таблица 2

Средний уровень выявления положительных проб бактериальных агентов среди мужчин и женщин

Возбудитель	Положительные пробы, %	
	мужчины	женщины
<i>Chlamydia trachomatis</i>	4,55	4,96
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	16,67	15,15
<i>Mycoplasma genitalium</i>	13,08	1,64
<i>Trichomonas vaginalis</i>	3,70	3,93
<i>Gardnerella</i>	25,00	49,06
Всего...	9,80	7,02

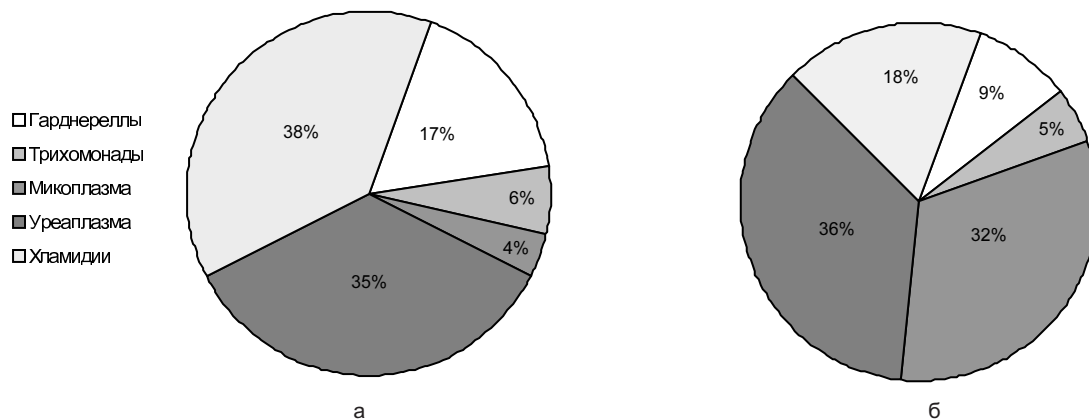


Рис. 1 Этиологическая структура ЗППП: а — у женщин; б — у мужчин

Учитывая, что использовали случайную выборку пациентов (по визитам к гинекологу и урологу) и разное число обследованных мужчин и женщин, логично полагать, что эти результаты не претендуют на универсальность, относятся лишь к конкретной выборке.

Если проанализировать этиологическую структуру диагностируемых заболеваний, то среди возбудителей доминировали *Chlamydia trachomatis* и *Ureaplasma urealyticum* (38% и 35% соответственно). Процент выявления остальных агентов по мере убывания распределялся следующим образом: *Gardnerella*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*.

При анализе нозологической структуры выявленных возбудителей отдельно у женщин и мужчин оказалось, что у первых доминировали *Chlamydia trachomatis* и *Gardnerella*, у последних — *Mycoplasma genitalium* (рис. 1).

Что касается сезонных колебаний в выявлении положительных проб, то они были незначительными с тенденцией увеличения таковых в ноябре — декабре, что согласуется с известными данными об обострении воспалительных заболеваний в осенне-зимний период (рис. 2).

Как известно, кроме бактериальных агентов существенная роль в этиологии ЗППП принадлежит вирусным патогенам, среди которых наибольшую клиническую значимость имеют герпетические вирусы (вирус

простого герпеса 1-го, 2-го типа, цитомегаловирус) и вирусы папилломы человека [4, 5]. По результатам исследований средний уровень выявления положительных проб на наличие вирусных патогенов составил 13,81%. Среди них, по результатам ПЦР, доминировали так называемые вирусы папилломы человека с высоким канцерогенным риском, которые составили 28,47%. Генетический материал цитомегаловируса выявлен в 5% проб, вирус простого герпеса 1-го, 2-го типа — в 1,34%. При этом уровень положительных проб среди мужчин и женщин был сопоставим.

Представленные в работе результаты подтверждают целесообразность использования ПЦР в качестве эффективного рутинного метода экспресс-диагностики и изучения этиологической структуры ЗППП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Workowski K. A., Berman S. M. // *MMWR Recommendations*.— 2006.— № 55 (RR-11).— P. 1—94.
2. Woods C. L. // *Clin. Lab. Med.*— 1995.— Vol. 15, № 3.— P. 665—684.
3. Falk L., Fredlund H., Jensen J. // *Sex. Transm. Infect.*— 2005.— Vol. 81, № 1.— P. 73—78.
4. Возианов А. Ф., Ващенко С. Н., Руденко А. В. и др. // *Венерология*.— 2003.— № 4.— С. 71—76.
5. Rager K. M., Biro F. M. // *Curr. Womens Health Rep.*— 2001.— Vol. 2, № 1.— P. 111—115.

Поступила 24.07.12.

POLYMERASE CHAIN REACTION APPLICATION FOR ROUTINE DIAGNOSIS OF SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES

O. N. Kazinets, T. V. Amvrosieva, N. V. Poklonskaya, A. N. Khilo, P. I. Grinkevich, Z. F. Bogush

The experience of the polymerase chain reaction application for diagnosis of sexually transmitted diseases among Minsk region patients in relation to a wide spectrum of bacterial and viral pathogens is presented in the publication. *Gardnerella* and *Ureaplasma urealyticum* were registered most often (45.9% and 15.3% respectively). So-called viruses of human papilloma demonstrating high risk of cancer (28.5%) prevailed among viral pathogens. The outcomes presented confirm the expediency of the polymerase chain reaction application as an efficient routine method of express diagnosis of sexually transmitted diseases. **Key words:** sexually transmitted diseases, bacterial and viral pathogens, polymerase chain reaction.

Адрес для корреспонденции:

Казинец Ольга Николаевна.
Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.
220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23; сл. тел. (8-017) 265-08-96.



Рис. 2. Уровень выявления положительных проб по бактериальным агентам по месяцам



В. В. ШИМАЛОВ, Л. Н. АКИМОВА, Е. И. БЫЧКОВА

ЦЕРКАРИОЗЫ — АКТУАЛЬНАЯ ЭКОЛОГО-МЕДИЦИНСКАЯ ПРОБЛЕМА БЕЛАРУСИ

Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина, Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам

Приведены данные литературы и результаты собственного исследования моллюсков в Республике Беларусь на наличие церкарий трематод, способных вызывать церкариозы у людей. В 2010 г. исследовано 14 174 экземпляра брюхоногих и двустворчатых моллюсков 15 видов из различных водных объектов Брестской, Гомельской, Минской и Витебской областей. Обнаружены церкарии 4 видов трематод шистосоматид, опасных для человека. Они относятся к видам родов *Bilharziella* и *Trichobilharzia*. Отмечено, что проблема церкариозов людей в настоящее время является актуальной для здравоохранения Республики Беларусь.

Ключевые слова: церкариоз, шистосоматиды, церкарии трематод, зараженность людей.

Церкариозы — заболевания, вызываемые личинками (церкарии) трематод. Церкарии различных видов шистосоматид (семейство *Schistosomatidae* Stiles et Hassall) способны внедряться в кожу человека и вызывать дерматиты, регистрируемые во многих странах мира как «церкариозный дерматит», «зуд пловцов», «зуд купальщиков», «водный зуд», «водная чесотка», «*cerarial dermatitis*» и др. Заболевания встречаются у людей в обоих полушариях земного шара от Северного полярного круга до Южных территорий Африканского, Южно-американского и Австралийского материков [9]. Все представители семейства *Schistosomatidae* являются потенциальными агентами церкариозов человека. Для Европейской территории причинами данного заболевания выступают птички шистосоматиды, относящиеся к 5 родам этого семейства: *Bilharziella*, *Trichobilharzia*, *Dendritobilharzia*, *Gigantobilharzia* и *Allobilharzia*. На территории Республики Беларусь зарегистрированы представители первых трех родов. Мариты птичьих шистосоматид паразитируют у водоплавающих птиц, преимущественно утиных и чайковых [34, 35, 52].

Церкарии внедряются в кожные покровы человека при контакте с водой водоемов (купание, игры, стирка белья, выполнение сельскохозяйственных, мелиоративных, рыбозаводных и других работ), содержащих в своих биоценозах брюхоногих моллюсков, источниками инвазии которых являются преимущественно водоплавающие птицы, а также при хождении босиком по мокрой траве вблизи водоемов, особенно в заболоченных прибрежных участках [37, 46]. Поражения кожи могут наблюдаться у специалистов, профессионально связанных с обследованием водоемов (гидробиологи, гельминтологи, ботаники, малакологи, энтомологи) и у заготовителей прибрежной растительности (камыш, аир, тростник и др.) [46].

К контингентам повышенного риска заражения относятся и дети [8].

Под воздействием церкарий у людей появляется жжение, затем зуд, в дальнейшем могут образоваться папулезные высыпания, заканчивающиеся тяжелым дерматитом, который может длиться несколько дней, а также отмечается нарушение сна, головокружение, сухой кашель, температура тела повышается до 38°C и выше [8, 33].

Российский гельминтолог Г. А. Котельников многократно подвергался инвазированию церкариями трематоды *Bilharziella polonica* и отмечал, что дерматит сопровождался сильным зудом, повышением температуры, головными болями, бессонницей и общим недомоганием [цит. по 34].

У другого российского гельминтолога Ю. В. Курочкина при проведении самозаражения церкариями трематоды *Trichobilharzia ocellata* в течение нескольких дней, кроме зудящего дерматита, наблюдалась высокая температура, сухой кашель, боли в груди и эозинофилия в крови, при повторных заражениях — крапивница, отечность кожных покровов и высокая степень эозинофилии [цит. по 39].

Вот как описывают состояние человека после контакта с церкариями шистосоматид Ю. В. Курочкин и Ю. А. Березанцев: «Через 3—4 ч после пребывания без одежды в воде на коже до уровня погружения в воду ощущается постепенно усиливающийся зуд. На следующий день появляются сильно зудящие красные папулы. Кожный зуд и сыпь держатся в течение нескольких дней. При более интенсивном заражении, кроме кожных проявлений, отмечается повышение температуры, поражение легких, сопровождающееся сухим кашлем, и эозинофилия в крови. При повторных заражениях может наблюдаться аллергическая реакция» [28].

Л. П. Цыркунов приводит случай дерматита, когда наряду с кожными поражениями имели место нарушения сна, головокружение, плохое самочувствие с температурой тела до 38°C. Эти симптомы отмечались и на 4-й день после появления первых высыпаний на коже. Только лечение антигистаминными препаратами и местными противовоспалительными средствами привело к почти полному клиническому выздоровлению в течение 2 нед [45].

Е. Zbikowska, проведя в Польше экспериментальное заражение добровольцев церкариями трематоды *B. polonica*, ни в одном случае не наблюдала симптомы дерматита и предполагает, что эти личинки вызывают дерматит у людей с нежной кожей, поскольку в случае с нормальной кожей это оказалось невозможно [54].

Церкарии могут поражать не только кожу, но и различные внутренние органы и ткани человека. В зависимости от вида церкарий они погибают у несвойственного хозяина (человек) в толще кожи, в легких или реже — в других внутренних органах [39].

В Беларуси из шистосоматид, церкарии которых могут вызывать церкариозы, встречаются трематоды

B. polonica, *Dendrobilharzia pulverulenta* и виды рода *Trichobilharzia*. Первый вид является распространенным паразитом диких и домашних водоплавающих и болотных птиц (поганковые, голенастые, пастушковые, утиные, кулики, чайковые, журавлиные), найден также у голубиных, второй и третий — у утиных (в том числе у домашней утки), реже они инвазируют соответственно пастушковых птиц и чаек [34, 40, 42]. В жизненном цикле этих гельминтов принимают участие промежуточные хозяева — преимущественно пресноводные легочные брюхоногие моллюски семейств *Lymnaeidae rafinesque* (лимнеиды) и *Planorbidae rafinesque* (планорбиды). В них формируются вилхвостые церкарии (фуркоцеркарии), которые постепенно покидают моллюсков и некоторое время находятся в воде, попадая в организм облигатных дефинитивных (окончательные) хозяев (птицы) через кожу и/или при заглатывании ими личинок с водой [34, 47].

Только в 60-х годах XX века в научной литературе появились сообщения о регистрации у жителей Беларуси дерматитов, вызываемых церкариями шистосоматид [6].

К 1970 г. трематоды *B. polonica* были обнаружены у диких и домашних утиных птиц (кряква, широконоска, красноголовый нырок, домашняя утка) в Брестской и Витебской областях, *D. pulverulenta* — у чирка-трескунка в Гомельской области [30]. Проведенные исследования птиц в Брестской, Гомельской, Витебской и Минской областях установили, что основной дефинитивный хозяин трематоды *B. polonica* — кряква [10, 11]. Анализ динамики инвазивности этой трематодой крякв из урбанизированных популяций в Минской области, сделанный Е. И. Бычковой, показал, что частота встречаемости данного паразита возросла с 12,3 в 1996 г. до 16,7% в 1997 г. и 25,0% в 1998 г., самая высокая интенсивность инвазии (41 экземпляр) зарегистрирована в 1998 г. [12]. В таких крупных промышленных центрах Беларуси, как Минск и Столбцы, и в их окрестностях (Минский, Молодечненский и Столбцовский районы Минской области) кряквы заражены трематодой *B. polonica* на 83,3%, а моллюски *Lymnaea stagnalis* церкариями этого паразита — на 23,0% [29].

Позже появились сообщения о находках на озере Нарочь трематоды *B. polonica*, кроме кряквы, также у свиязи, чирка-свистунка, чернетей хохлатой и красноголовой; трематод рода *Trichobilharzia* — у этих видов птиц и еще у поганки большой (чомга), чирка-трескунка [32, 43].

В Беларуси интерес к церкариозам резко возрос в 90-х годах XX века, когда увеличились случаи обращения людей в медицинские учреждения по поводу появления дерматитов после купания в водоемах. Минздрав Республики Беларусь с 1994 г. включил в приоритетные направления исследований изучение эпидемической ситуации по церкариозам [16]. Уже в августе 1994 г. были проведены комплексные эколого-паразитологические исследования в Нарочанской зоне отдыха (Мядельский район Минской области). С целью выяснения причин ухудшения эпидемиологиче-

ской обстановки по церкариозам и выявления зон повышенного риска заражения людей церкариями из Москвы был приглашен профессор С. А. Безр. Исследовали 8 видов моллюсков лимнеид и планорбид — потенциальных промежуточных хозяев шистосоматид, было установлено, что 18,9% моллюсков инвазированы личинками, в большинстве случаев — лимнеиды (5 видов), меньше — планорбиды (только 1 вид) [7]. Основными видами, вызывающими церкариозы у людей на обследованной территории, являлись *B. polonica* и группа *Trichobilharzia ocellata*, зараженность моллюсков которыми составила 11,0% и 7,8% соответственно. Кроме этого, было выявлено, что максимальное количество церкарий сосредоточено в поверхностном 10—20-сантиметровом слое воды, а сами церкарии способны удерживаться и накапливаться не только на листьях и стеблях водных растений, но и на любом плавающем субстрате, сохраняя жизнеспособность не менее 3 сут при температуре воды 15—20°C. Также установлен основной дефинитивный хозяин этих шистосоматид — кряква, зараженность которой данными трематодами была примерно одинаковой и составила 33,3%.

По сведениям медицинской службы оздоровительных учреждений, церкариозные дерматиты у отдыхающих в Нарочанской рекреационной зоне выявлены в 4,2% случаев, причем у детей почти в 5 раз чаще, чем у взрослых (11,4% и 2,8% соответственно).

В тот период один из участников исследований (С. А. Безр) провел эксперимент по самозаражению церкариями и отмечал в течение 3 мес сильный зуд и опухание ног в местах внедрения этих личинок. Позже Т. Е. Дороженкова экспериментальным путем установила, что выход церкариев шистосоматид птиц из моллюсков достигает пика к 14 ч, а после 18 ч снижается более чем в 2 раза, продолжительность жизни церкарий вне тела моллюска не превышает 3 сут [21].

В 1995 г. на основе проведенных исследований были разработаны «Методические рекомендации по диагностике, медико-экологической экспертизе и профилактике церкариозов» [8].

В 1996 г. Б. С. Колосовский и Т. Е. Дороженкова представили обобщенные материалы по изучению шистосоматид в курортной зоне озера Нарочь [26]. Они установили, что 43,0% крякв заражены трематодами *B. polonica* и группы *T. ocellata*, а церкарии этих паразитов обнаружены у 24,4% лимнеид и 6,4% планорбид, причем степень инвазивности моллюсков церкариями *B. polonica* в 2 раза меньше, чем церкариями группы *T. ocellata* (7,0% и 14,0% соответственно). Кроме того, за август 1995 г. медслужба Нарочанской зоны отдыха зарегистрировала дерматиты у 3,2% детей и 2,3% взрослых, что, по мнению Б. С. Колосовского и Т. Е. Дороженковой, не отражало истинной картины заболевания, поскольку не все инвазированные обращались к врачу.

Н. Л. Кудина, проводя исследования в 1994—1997 гг., нашла личинки шистосоматид в печени 16 видов брюхоногих моллюсков, собранных на литорали озера Нарочь, общий уровень инвазивности которых этими паразитами составил 30,4% [27]. При-

чем кроме лимнеид (8 видов) и планорбид (6 видов), относящихся к легочным моллюскам (*Pulmonata*), личинки обнаружены у переднежаберных моллюсков (*Prosobranchia*): *Bithynia tentaculata* (семейство *Bithyniidae* Gray) и *Viviparus contectus* (семейство *Viviparidae* Gray), что является ошибочным.

Т. Е. Дороженкова привела результаты паразитологического мониторинга пораженности птиц и моллюсков шистосоматидами и заболеваемости людей церкариозами за 1995—2005 гг. в Нарочанской курортной зоне отдыха [22]. Установлено, что дефинитивными хозяевами трематод *B. polonica* и группы *T. ocellata* являются кряква и чирок-трескунок, относящиеся к семейству *Anatidae* leach (утиные) (в 2005 г. зараженность крякв трематодой *B. polonica* составила 100%), промежуточными — брюхоногие моллюски: прудовики обыкновенный (*L. stagnalis*), овальный (*Radix ovata*), ушковый (*R. auricularia*), болотный (*Stagnicola palustris*) и вытянутый (*Lymnaea pereger*), а также катушки обыкновенная (*Planorbis planorbis*) и роговая (*Planorbis corneus*). Общее число случаев церкариоза людей за этот период наблюдений составило 3795, увеличившись с 324 в 1995 г. до 533 в 2005 г. Наибольшее количество случаев зарегистрировано в июле (88,6%), основной контингент инвазированных церкариями составляли лица 7—18 лет.

Проблема шистосоматидных церкариозов, выйдя на заметный для практического здравоохранения уровень, пока трудно поддается разрешению прежде всего из-за нарушения экологического равновесия в экосистеме озера Нарочь, усиления степени рекреационного воздействия, наметившейся тенденции потепления климата и ухудшения санитарного состояния береговой линии пляжей в курортной зоне [13].

Решение проблемы экологического оздоровления озера Нарочь стало задачей государственной важности. Слежение за ситуацией по церкариозам начали проводить после выхода Указа Президента Республики Беларусь № 71 от 14 февраля 2005 г. «О Государственной программе экологического оздоровления озера Нарочь на 2005—2008 гг.» [31]. В рамках выполнения данной программы в 2005—2006 гг. ученые НАН Беларуси и Белорусского государственного университета выяснили механизм функционирования очага шистосоматидных церкариозов, определили перечень хозяев паразитов, дали оценку плотности их популяций, годовой и сезонной динамики зараженности, наметили стратегию борьбы с церкариозами, заключающуюся в комплексном воздействии на очаг инвазии [4, 5, 14, 15]. Для санитарно-просветительной работы среди отдыхающих Т. Е. Дороженкова разработала памятку по профилактике шистосоматидных аллергических дерматитов [23], О.-Я. Л. Бекиш и Т. Е. Дороженкова — инструкцию для определения видовой принадлежности церкарий шистосоматид в брюхоногих моллюсках [3].

Выяснено, что в группу *T. ocellata* входят церкарии трематод *T. franki*, *T. regenti* и *T. szidati*, а также, возможно, и новый вид — *Trichobilharzia* sp. var. *narochanica* [1, 2, 38, 43, 44, 50]. Промежуточными хозяевами их являются моллюски лимнеиды. Также

установлен промежуточным хозяином трематоды *B. polonica* моллюск *P. corneus* [1, 2, 43]. А вот находки церкарий этих трематод у моллюска *V. contectus* вызывают сомнения [21].

Важность проблемы церкариозов человека в Нарочанском курортном регионе была отражена в материалах семинара «Проблема церкариоза в Нарочанском регионе», который проходил 1—2 ноября 2006 г. [36].

Всего официальной медицинской статистикой Республики Беларусь за 2003—2006 гг. зарегистрирован 2071 случай церкариоза людей в Нарочанской курортной зоне. Отмечено снижение инвазированности церкариями шистосоматид брюхоногих моллюсков с 11,2 в 2003 г. до 3,5% в 2005 г. с последующим увеличением на 22,8% в 2006 г., когда было зафиксировано 679 случаев обращений отдыхающих по поводу дерматитов.

Церкариозы человека выявляли и в других областях Беларуси. Так, в 1994 г. отмечено 14 случаев в Брестской области [17]. В 1995—2006 гг., по данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, 115 — в Брестской, 2 — в Гомельской и 26 — в Могилевской областях.

Кроме Нарочанской зоны отдыха людей в других регионах Беларуси осуществлялись исследования брюхоногих моллюсков — потенциальных хозяев личинок шистосоматид, вызывающих дерматиты у людей.

А. Ф. Иванькова, изучая в 1980—1997 гг. в Брестской области зараженность моллюсков церкариями трематод, регистрирует в качестве промежуточных хозяев трематоды *B. polonica* прудовиков *Lymnaea berlani*, что требует подтверждения, а трематод группы *T. ocellata* — *L. corvus*, *L. stagnalis*, *R. auricularia* и *S. palustris* [25].

Е. И. Бычкова после обследования в 1996—1998 гг. водоемов и водотоков Минска и его окрестностей отмечает, что основную роль в распространении церкарий шистосоматид играют брюхоногие моллюски семейств *Lymnaeidae* и *Planorbidae* (по 2 вида) [12]. Максимальная инвазированность личинками этих трематод отмечена у *R. auricularia* (11,9%) и *P. corneus* (15,4%). Также она установила, что в реке Свислочь (черта Минска) зараженность моллюсков составила 12,7%, в Минском море — 7,5%, в озере Комсомольское — 7,7%, в водоемах в окрестностях санатория «Сосновый Бор» — 12,3%, где отмечена самая высокая инвазированность катушек *Anisus vortex* и *P. corneus* (50,0% и 40,0% соответственно).

Н. Л. Кудина провела изучение зараженности моллюсков на городских водоемах Минска, где уровень инвазированности лимнеид (2 вида) и планорбид (1 вид) церкариями шистосоматид составил 31,25% [27].

В. Ф. Смолик и Н. П. Шанько зарегистрировали личинки шистосоматид у пресноводных легочных моллюсков в Новогрудском районе Гродненской области: 9,5% исследованных инвазировано *R. auricularia*, 19,0% — *L. stagnalis*, 27,4% — *P. corneus* и 3,5% — *Viviparus viviparus* [41]. Однако факт заражения шистосоматидами моллюска *V. viviparus* требует подтверждения.

В 2000—2003 гг., по данным исследований работников территориальных центров гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, пораженность пресноводных моллюсков личинками шистосоматид, вызывающих дерматиты у людей, выявляли во всех областях Беларуси, достигая 13,6% (Гомельская и Минская области).

В 2001—2002 гг. аналогичные исследования моллюсков из водоемов и водотоков Минска и его пригорода проводили специалисты НАН Беларуси. Зараженность личинками шистосоматид доходила до 45,0% у *R. ovata*, до 36,7% — у *L. stagnalis*, до 30,0% — у *R. auricularia* и до 34,1% — у *P. corneus*, менее инвазированы (на 0,6% и 1,3% соответственно) *L. lagotis* и *Anisus spirorbis* [18, 19].

Т. Е. Дороженкова кроме озера Нарочь выявила потенциально опасные для купания водоемы, расположенные в Борисовском, Вилейском, Дзержинском и Несвижском районах Минской области [24]. Она установила наибольшую инвазированность брюхоногих моллюсков церкариями трематоды *B. polonica* (до 2,3%) и видами рода *Trichobilharzia* (до 1,2%) в Вилейском водохранилище.

В научной литературе имеются сведения о том, что церкарии других видов трематод, не относящихся к шистосоматидам, способны вызывать церкариозы у человека. Однако к подобным сообщениям необходимо относиться критически.

Так, церкарии трематоды *Diplostomum spathaceum* (семейство *Diplostomidae* Poirier) могут не только проникать в/через кожу и вызывать дерматиты у людей [53], но и мигрировать в глаза [52]. Также W. Nass приводит экспериментальные данные по реакции прикрепления и внедрения церкарий трематоды *D. spathaceum* при контакте с пальцем человека, когда в 65% случаев осуществлялось прикрепление церкарий с редкими попытками внедрения [51]. Церкарии могут прикрепляться и пытаться внедряться в несвойственного для них хозяина, однако сам факт проникновения требует экспериментального подтверждения. Известно, что для трематод *D. spathaceum* вторым промежуточным хозяином являются холоднокровные животные — различные виды рыб, и физиология церкарий приспособлена для проникновения через кожные покровы именно этих животных. Факт миграции личинок в несвойственном для них хозяине сомнителен.

Церкарии трематоды *Fasciola hepatica* (семейство *Fasciolidae* Railliet) также способны вызывать дерматит у людей [20]. Это вряд ли соответствует действительности. Известно, что для трематоды *F. hepatica* характерен жизненный цикл с участием промежуточного и окончательного хозяев. Церкарии, покидая моллюска (промежуточный хозяин), некоторое время активно плавают, а затем инцистируются на поверхностной пленке воды или различных водных объектах, чаще всего растительности, образуя адолескарии. Для личинок этого вида вообще не характерно активное внедрение в окончательного хозяина. Церкарии даже не имеют желез проникновения, характерных для видов, активно внедряющихся в следующего хозяина.

В 2010 г. на зараженность церкариями трематод авторы данной статьи исследовали 14 174 экземпляра моллюсков, собранных на мелководье (до 0,4—0,5 м) и с прибрежной растительности пруда у д. Черевки, озер Нарочь, Баторино, Мястро, Мядель, Рудаково, Большие Швакшты, Дягили (национальный парк «Нарочанский», Минская область), Полоневичи (Минская область), Белое с каналами (водоем-охладитель Березовской ГРЭС, Брестская область) и Барбаровский Старик (Гомельская область), Лукомского (водоем-охладитель Лукомской ГРЭС, Витебская область) и Великоборского водохранилищ (Гомельская область), рек Днепр (окрестности д. Нижние Жары, Гомельская область) и Припять (окрестности г. Микашевичи, Брестская область). Среди них было 13 856 брюхоногих моллюсков (*Gastropoda*): *B. tentaculata* (1954), *Lithoglyphus naticoides* (36), *V. contectus* (597), *V. viviparus* (446), *L. stagnalis* (1806), *Radix* spp. 1 (434), *Radix* spp. 2 (1012), *S. palustris* (1333), *Theodoxus fluviatilis* (524), *Physella acuta* (1197), *Anisus vortex* (46), *P. corneus* (1999), *P. planorbis* (2472) и 318 двустворчатых моллюсков (*Bivalvia*) — *Dreissena polymorpha* (205), *Sphaerium corneum* (113).

Обнаружены церкарии 4 видов трематод шистосоматид, которые могут вызывать аллергодерматиты у людей, контактирующих с водой. К ним относятся церкарии трематоды *B. polonica* и все виды трематод рода *Trichobilharzia* (таблица). Церкарии трематоды *B. polonica* найдены только у брюхоногого моллюска *P. corneus* (озера Нарочь и Полоневичи). Церкарии трематод рода *Trichobilharzia* выявлены у лимнеид, обитающих в озерах Баторино, Мястро, Большие Швакшты и Полоневичи. Зараженность моллюсков церкариями шистосоматид составляет 0,4% (озера Нарочь и Полоневичи) — 5,9% (озеро Мястро). Все эти озера, за исключением озера Полоневичи, расположены в Национальном парке «Нарочанский». Именно здесь до сих пор остается актуальной проблема церкариозов человека.

Следовательно, эпидемио-эпизоотологическая ситуация в Беларуси по этой группе трематод неблагоприятная, является в основном проблемой городов, курортных и рекреационных зон.

Способствовать снижению угрозы заражения людей церкариями трематод будет санитарно-просветительная работа среди различных слоев населения. Безусловно, важную роль будет играть и самосознание людей — в каких местах и как купаться (церкарии могут самостоятельно проникать в организм, а могут оказаться в нем, будучи проглоченными с водой), использовать или нет специальные мази, другие средства защиты и профилактики.

Должен осуществляться постоянный эколого-паразитологический мониторинг (санитарно-эпидемиологический надзор) акватории всех пляжных зон с целью своевременного выявления очагов птичьих шистосоматидозов. Проводимые мероприятия не должны нарушать экологическое равновесие в экосистемах и не препятствовать сохранению биоразнообразия, особенно в особо охраняемых природных

Зараженность моллюсков церкариями трематод шистосоматид (2010 г.)

Вид трематоды	Моллюск-хозяин	Место обнаружения	Зараженные, %
<i>Bilharziella polonica</i> (Kowalewski, 1895)	<i>P. corneus</i>	Полоневичи	0,4
		Нарочь	0,4
<i>Trichobilharzia franki</i> (Muller et Kimmig, 1994)	<i>Radix</i> spp. 1	Нарочь	0,9
	<i>Radix</i> spp. 2	Нарочь	1,3
<i>T. szidati</i> (Neuhaus, 1952)	<i>L. stagnalis</i>	Полоневичи	0,2
		Баторино	3,4
		Мястро	3,6
		Б. Швакшты	0,8
		Нарочь	0,5
	<i>S. palustris</i>	Баторино	2,1
		Мястро	5,9
<i>Trichobilharzia</i> sp. var. <i>narochanica</i>	<i>Radix</i> spp. 1	Нарочь	0,5

Примечание. К комплексу *Radix* spp. 1 отнесены моллюски, имеющие уховидную раковину (*R. ampla* и *R. auricularia*), к комплексу *Radix* spp. 2 — виды, имеющие вытянутую форму раковины: *R. balthica* Linnaeus, 1758 (син. *R. ovata*; *R. peregra ovata*; *R. peregra* Muller, 1774), *R. labiata* Rossmassler, 1835, и *R. lagotis* Schrank, 1803.

территориях, где имеются курортные зоны. Для этих целей следует использовать записи голосов хищных птиц для отпугивания водоплавающих птиц. Также положительный результат дает дегельминтизация птиц албендатимом-100 [49]. Следует учитывать, что моллюски обеспечивают высокий уровень партеногенетического размножения паразитов и выход большого количества церкарий даже при относительно низкой численности зараженных особей, поэтому для поддержания стойкого очага не обязательно присутствие на водоеме большого количества птиц — дефинитивных хозяев трематод [48]. Комплексно оценивать территорию должны экологи, паразитологи, эпидемиологи, малакологи, орнитологи, териологи и т. п.

Таким образом, проблема церкариозов людей в Республике Беларусь весьма актуальна, имеет важные медицинские и другие аспекты, требует принятия соответствующих мер защиты населения.

ЛИТЕРАТУРА

- Акимов Л. Н., Курченко В. П. Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов: Материалы Междунар. науч.-практ. конф. и X зоол. конф.— Минск, 2009.— Ч. 1.— С. 13—15.
- Акимов Л. Н. Теоретические и практические проблемы паразитологии: Материалы Междунар. науч. конф.— М., 2010.— С. 14—18.
- Бекиш О.-Я. Л., Дороженкова Т. Е. Способ определения видовой принадлежности церкариев птичьих трематод семейства Schistosomatidae в брюхоногих легочных моллюсках: Инструкция по применению.— Минск, 2007.
- Бекиш О.-Я. Л., Дороженкова Т. Е. Паразитарные болезни человека, животных и растений: Труды VI Междунар. науч.-практ. конф.— Витебск, 2008.— С. 50—58.
- Бекиш О.-Я. Л., Дороженкова Т. Е. // Мед. новости.— 2008.— № 16.— С. 40—44.
- Березанцев Ю. А., Курочкин Ю. В. // Мед. паразитол. и паразитарные болезни.— 1966.— № 3.— С. 332—337.
- Безр С. А., Солонец Т. М., Дороженкова Т. Е., Жукова Т. В. // Мед. паразитол. и паразитарные болезни.— 1995.— № 3.— С. 8—11.
- Безр С. А., Колосовский Б. С., Солонец Т. М. и др. Методические рекомендации по диагностике, медико-экологической экспертизе и профилактике церкариозов.— Минск, 1995.
- Безр С. А., Воронин М. В. Церкариозы в урбанизированных экосистемах.— М., 2007.
- Бычкова Е. И., Козлов В. П. Сохранение биологического разнообразия Белорусского Поозерья: Тез. докл. регион. науч.-практ. конф.— Витебск, 1996.— С. 118—119.
- Бычкова Е. И., Чемармозович И. Э., Парейко О. А. // Весні НАН Беларусі. Сер. біял. навук.— 1999.— № 2.— С. 97—101.
- Бычкова Е. И. Структурно-функциональное состояние биологического разнообразия животного мира Беларуси: Тез. докл. VIII зоологич. конф.— Минск, 1999.— С. 368—369.
- Бычкова Е. И. Динамика биологического разнообразия фауны, проблемы и перспективы устойчивого использования и охраны животного мира Беларуси: Тез. докл. IX зоол. науч. конф.— Минск, 2004.— С. 231—232.
- Бычкова Е. И. Состояние природной среды Беларуси: Экологич. бюл. за 2006 год.— Минск, 2007.— С. 253—259.
- Бычкова Е. И. Паразитарные болезни человека, животных и растений: Труды VI Междунар. науч.-практ. конф.— Витебск, 2008.— С. 206—209.
- Веденьков А. Л., Чистенко Г. Н., Самойлова Т. И., Скрипова Л. В. Паразитарные заболевания в Республике Беларусь за 1993 год: Информ. письмо.— Минск, 1994.
- Веденьков А. Л., Кокарева М. В., Чистенко Г. Н. и др. Паразитарные заболевания в Республике Беларусь за 1994 год: Информ. письмо.— Минск, 1995.
- Веденьков А. Л., Яшкова С. Е., Себут Н. С. и др. Гельминтозы, протозоозы, трансмиссивные зоонозные, заразные кожные и венерические заболевания в Республике Беларусь: Информ.-аналитич. бюл. за 2001 год.— Минск, 2002.
- Веденьков А. Л., Будаев Г. А., Себут Н. С. и др. Гельминтозы, протозоозы, трансмиссивные зоонозные, заразные кожные заболевания и инфекции, передаваемые преимущественно половым путем в Республике Беларусь: Информ.-аналитич. бюл. за 2002 год.— Минск, 2003.
- Горохов В. В. // Ветеринария.— 1996.— № 7.— С. 8—17.
- Дороженкова Т. Е. Современные проблемы общей, медицинской и ветеринарной паразитологии: Труды IV Междунар. науч. конф.— Витебск, 2004.— С. 29—31.
- Дороженкова Т. Е. Достижения и перспективы развития современной паразитологии: Труды V Республ. науч.-практ. конф.— Витебск, 2006.— С. 274—280.
- Дороженкова Т. Е. // Мед. панорама.— 2006.— № 5.— С. 77—81.
- Дороженкова Т. Е. Сахаровские чтения 2010 года: экологические проблемы XXI века: Материалы X Междунар. науч. конф.— Минск, 2010.— Ч. 1.— С. 192.
- Иванькова А. Ф. // Веснік Брэсцкага ун-та.— 2000.— № 6.— С. 94—104.
- Колосовский Б. С., Дороженкова Т. Е. Материалы IX съезда работников профилактической медицины Республики Беларусь (70 лет сан.-эпидем. службе).— Минск, 1996.— Т. 3.— Ч. 2.— С. 81—83.

27. Кудина Н. Л. Разнообразие животного мира Беларуси: итоги изучения и перспективы сохранения: Материалы Международ. науч. конф.— Минск, 2001.— С. 61—63.
28. Курочкин Ю. В., Березанцев Ю. А. // Тезисы докладов науч. конф. ВОГ.— М., 1960.— С. 64—65.
29. Лабецкая А. Г., Киреев К. М., Бычкова Е. И. и др. Ветеринарные и зооинженерные проблемы в животноводстве и науч.-методич. обеспечение учеб. процесса: Материалы II Международ. науч.-практ. конф.— Витебск, 1997.— С. 189—191.
30. Меркушева И. В., Бобкова А. Ф. Гельминты домашних и диких животных Белоруссии: Каталог.— Минск, 1981.
31. О Государственной программе экологического оздоровления озера Нарочь на 2005—2008 гг. / Указ Президента Республики Беларусь № 71 от 14 февраля 2005 г. Зарегистрировано в национальном реестре правовых актов Республики Беларусь 15 февраля 2005 г. № 1/6237.
32. Островский О. А., Бабушикова Е. П., Хейдорова Е. Э. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. Сер. мед. навук: Приложение.— 2008.— Ч. 1.— С. 194—198.
33. Паразитарные зоонозы: Доклад Комитета экспертов ВОЗ с участием ФАО, Женева, ВОЗ. Сер. технич. докл. 637.— М., 1980.
34. Петроченко В. И., Котельников Г. А. Гельминтозы птиц.— М., 1976.
35. Подъяпольская В. П., Карнаухов В. К., Асламазов Э. Г. Многолетнее руководство по микробиологии, клинике и эпидемиологии инфекционных болезней.— М., 1968.— Т. 9.— С. 389—407.
36. Проблема церкариоза в Нарочанском регионе: Материалы семинара, проведенного гос. природоохранным учреждением «Национальный парк «Нарочанский»» на базе Учеб.-науч. центра «Нарочанская биологическая станция им. Г. Г. Винберга» / Под ред. Т. В. Жуковой, В. С. Люштыка.— Минск, 2007.
37. Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации: Санитарные правила и нормы.— М., 1997.
38. Семенова С. К., Хрисанфова Г. Г., Лопаткин А. А. и др. Теоретические и практические проблемы паразитологии: Материалы Международ. науч. конф.— М., 2010.— С. 344—347.
39. Смирнов Г. Г. Медицинская гельминтология / Под ред. Г. С. Первомайского, В. Я. Подоляна.— М., 1974.— С. 160—308.
40. Смогоржевская Л. А. Гельминты водоплавающих и болотных птиц фауны Украины.— Киев, 1976.
41. Смолик В. Ф., Шанько Н. П. // Здоровье.— 2000.— № 4.— С. 29—30.
42. Трематоиды птиц причерноморских и прикаспийских районов / Отв. ред. А. А. Шигин.— М., 1983.
43. Хейдорова Е. Э. Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов: Материалы Международ. науч.-практ. конф. и X зоол. конф.— Минск, 2009.— Ч. 2.— С. 183—185.
44. Хрисанфова Г. Г., Лопаткин А. А., Мищенко В. В. и др. // ДАН.— 2009.— Т. 428, № 5.— С. 698—702.
45. Цыркунов Л. П. // Мед. паразитол. и паразитар. болезни.— 1987.— № 2.— С. 73-76.
46. Цыркунов Л. П., Яроцкий Л. С., Безр С. А. Профилактика, диагностика и лечение шистосоматидных (церкариальных) дерматитов: Методич. рекомендации.— Киев, 1987.
47. Черногоренко М. И. Личинки трематод в моллюсках Днепра и его водохранилищ (фауна, биология, закономерности формирования).— Киев, 1983.
48. Шигин А. А. // Зоопаразитология.— 1975.— Т. 4.— С. 52—76.
49. Якубовский М. В., Мяцова Т. Я., Бычкова Е. И. и др. // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси: Сб. науч. тр.— Минск, 2008.— Вып. 24.— С. 390—393.
50. Chrsanfova G. G., Lopatkin A. A., Vasylyev V. A., et al. 3rd Workshop on Bird Schistosomes and Cercarial Dermatitis: Abstract Book / Ed. L. Mikes, P. Horak.— Praha, 2009.— P. 16.
51. Hass W. // Inter. J. Parasitol.— 1974.— Vol. 4.— P. 311—319.
52. Smyth J. D. // Adv. Parasitol.— 1995.— Vol. 36.— P. 1—45.
53. Sevcova M., Kolarova L., Gottwaldova V. // Ceskoslovenska Dermatol.— 1987.— № 6.— P. 369—374.
54. Zbikowska E. // Parasitol. Res.— 2003.— № 1.— P. 59—62.

Поступила 01.12.11.

CERCARIOSIS AS BELARUS ECOLOGIC AND MEDICAL ACTUAL PROBLEM

V. V. Shimalov, L. N. Akimova, E. I. Bytchko

Literature data and own findings obtained while studying mollusks for detecting trematode cercarias possible to cause human cercariosis in the Republic of Belarus are presented. Totally 14,174 copies of conches and bivalves from various aqueous objects of Brest, Gomel, Minsk, and Vitebsk regions were studied in 2020. Cercarias of four species of shistosomatides dangerous for humans were found. They refer to Bilharziella and Trichobilharzia. The problem of human cercariosis was stressed to be actual for the Republic of Belarus public health service nowadays.

Key words: cercariosis, shistosomatides, trematode cercarias, population infestation.

Адрес для корреспонденции:

Шималов Владимир Васильевич.

Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина.

224016, г. Брест, б-р Космонавтов, 21; сл. тел. (8-0162) 21-64-66.

А. Л. УСС

РОЛЬ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С РЕЦИДИВАМИ И РЕФРАКТЕРНЫМИ ФОРМАМИ ЛИМфомы ХОДЖКИНА

Республиканский центр гематологии и пересадки костного мозга на базе 9-й городской клинической больницы

У 5—20% пациентов с лимфомой Ходжкина (ЛХ) проведение адекватной химиолучевой терапии первой линии не позволяет добиться полной ремиссии либо после достижения ремиссии развивается рецидив. Методика высокодозной химиотерапии, которая предусматривает значительную эскалацию доз и сопровождается трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток, нашла широкое применение при неблагоприятном течении ЛХ. Однако у 20—40% пациентов после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток развиваются рецидивы. У таких больных вероятность долгосрочной выживаемости не превышает 20%. Стандартных стратегий лечения для таких пациентов не существует. Включение в протоколы комплексной терапии ЛХ методики аллогенной трансплантации стволовых кроветворных клеток со сниженной интенсивностью режима кондиционирования привело к улучшению как качества жизни больных, так и конечных результатов: показателей достижения ремиссии, общей и безрецидивной выживаемости.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, высокодозная химиотерапия.

Несмотря на благоприятный прогноз, 15—20% пациентов, заболевших лимфомой Ходжкина (ЛХ), оказываются резистентными к химиотерапии, и у 20—40% из них развиваются рецидивы после высокодозной химиотерапии (ВДХТ) и аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК), которая используется как «терапия спасения». У таких пациентов вероятность долгосрочной выживаемости не превышает 20%. Целесообразность использования аллогенной ТГСК в лечении этих больных основана на предположении о наличии эффекта «трансплантат против лимфомы», которое высказали ряд исследователей. При использовании миелоаблативных режимов кондиционирования удалось добиться излечения некоторых пациентов, однако это оказалось сопряженным с высокой смертностью, связанной не с рецидивом ЛХ, а с токсичностью подготовительного режима. Снижение интенсивности режима кондиционирования, в свою очередь, оказалось связано с более высокой частотой развития рецидивов после трансплантации. Следует отметить, что в настоящее время нет стандартов терапии пациентов с ЛХ, у которых развился рецидив после ВДХТ и аутоТГСК. Ниже приведен обзор литературы по результативности аллогенной трансплантации стволовых клеток у больных с ЛХ с акцентом на результаты и факторы риска.

В течение последних десятилетий выживаемость пациентов с ЛХ существенно улучшилась: в настоящее время у 80—85% больных можно достичь стабильной ремиссии [1]. Даже на поздних стадиях заболевания (II В стадия с большой опухолевой массой в области средостения и III—IV стадия по классификации Ann Arbor) более 80% пациентов показывают долгосрочную свободную от болезни выживаемость. Тем не менее в 15—20% случаев отмечается первичная химиорезистентность опухолевого процесса или развивается рецидив после стандартной химиолучевой терапии. Для этих пациентов применение ВДХТ с последующей поддержкой аутоТГСК представляет собой более эффективную стратегию лечения по сравнению со стандартной химиолучевой терапией [2, 3]. Однако у 20—40% пациентов, подвергшихся ВДХТ и аутоТГСК, в течение последующих 7 лет после лечения возникают рецидивы опухоли [4—9]. Медиана выживаемости таких пациентов, по данным разных авторов, составляет от 6 до 84 мес [8—10].

Стратегия «терапии спасения», улучшающая результаты лечения в этой группе пациентов, включает применение химиотерапии (например, режимы с использованием гемцитабина) [11], повторное проведение ВДХТ с аутоТГСК [12], аллоТГСК. Об использовании последней в терапии рецидивов и рефрактерных форм ЛХ впервые сообщалось в 1980-х годах [13, 14]: у ряда пациентов она оказалась эффективным способом контроля над болезнью, однако была связана с высоким уровнем трансплантатозависимой летальности [15, 16]. На основании этих данных и предположения о возможном эффекте «трансплантат против лимфомы», при подготовке к трансплантации было предложено применение режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью [17, 18].

Первые системные результаты применения аллоТГСК при рецидивах ЛХ опубликованы в 1990-х годах [16, 19]. J. L. Gajewski и соавт. проанализировали результаты аллоТГСК у 100 пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ЛХ [16]. Средний возраст больных составил 24 (12—44) года. У большинства пациентов отмечались поздние стадии заболевания, и только 11 находились в состоянии ремиссии на момент проведения трансплантации. Миелоаблативные схемы включали комбинацию бусульфана (16 мг/кг) и циклофосфамида (200 мг/кг) с/без этопозида (20—60 мг/кг) или тотальное облучение тела (TOT) в дозе 12 Гр с циклофосфамидом. Результаты исследования оказались неутешительными из-за высокой частоты развития рецидивов — 65% и уровня трансплантатозависимой летальности — 61%, 3-летняя общая выживаемость (ОВ) составила 21%, безрецидивная выживаемость (БРВ) — 15%. Авторы исследования отметили более низкий риск рецидива у пациентов, имевших проявления острой и хронической реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), хотя и не обнаружили статистически значимых различий [15, 16, 19—21].

Результаты других исследований, проведенных в 1990-х годах, показали, что применение аллоТГСК у пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ЛХ сопряжено с высоким уровнем трансплантатозависимой

летальности, составлявшей от 40 до 60% [19, 20]. На основании этого целесообразность применения миелоаблативных режимов кондиционирования при выполнении аллоТГСК у этих пациентов была подвергнута критике.

Ж. Р. Соопеу и соавт. опубликовали результаты выполнения аллоТГСК у 10 пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ЛХ (средний возраст — 35 (21—49) лет), которым был проведен миелоаблативный режим кондиционирования по протоколу BEAM (BCNU, этопозид, цитарабин и мелфалан), который обычно используется при аутоТГСК. У всех пациентов после предшествующей аутоТГСК развились рецидивы болезни. На момент проведения аллоТГСК 6 пациентов ответили на предшествующее лечение и находились в полной ремиссии (ПР) или частичной (ЧР), у 4 отмечена рефрактерность к лечению. Не отмечено ни одного случая ранней (в течение 100 дней после трансплантации) трансплантатозависимой летальности. У всех 10 пациентов имелся ответ на лечение — достигнута ПР или ЧР. У 5 больных достижение ремиссии было связано с появлением хронической РТПХ. При продолжительности наблюдения от 1 до 21 мес после аллоТГСК 9 пациентов были живы, 7 — находились в непрерывной ПР, от прогрессии заболевания умер 1 больной [22]. Хотя эти работы позволяют предположить, что миелоаблативный режим кондиционирования может быть использован у пациентов с рецидивами ЛХ после аутоТГСК, исследова-

ния были весьма ограниченными как по числу пациентов, так и краткосрочным периодом последующего наблюдения — 12 мес. Тем не менее этот отчет может служить примером того, что некоторые миелоаблативные режимы обладают более низким риском трансплантатозависимой летальности по сравнению с другими программами интенсивного кондиционирования (бусульфан/циклофосфамид).

После первых исследований по изучению эффективности проведение аллоТГСК после режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью была рекомендована и внедрена в клиническую практику для лечения различных гематологических заболеваний, преимущественно у пациентов с тяжелой сопутствующей патологией, ограничивающей возможность проведения миелоаблативных протоколов [17, 23, 24]. Программы аллоТГСК с режимами кондиционирования со сниженной интенсивностью были предложены и для лечения больных с рецидивами ЛХ после аутоТГСК, у которых высокий риск трансплантатозависимой летальности вызван, вероятно, высокой токсичностью предыдущего лечения. Это привело к снижению кумулятивной летальности до 11%, однако результаты выживаемости остались практически неизменными, что обусловлено высокой частотой развития рецидивов (приблизительно 50%) у пациентов, подвергающихся аллоТГСК после кондиционирования со сниженной интенсивностью (табл. 1) [25—27].

Таблица 1

Эффективность аллоТГСК у пациентов с рецидивами ЛХ

Автор	Число пациентов	Число пациентов с химио-резистентностью	Ранняя ТЗЛ	Кумулятивная ТЗЛ		Рецидив		СБВ		ТПЛ эффект
				лет	%	лет	%	лет	%	
J. L. Gajewski и соавт. [16]	100	89	13%	3	61	3	65	3	15	Нет
N. Milpied и соавт. [19]	45	Н. д.	31%	4	48	4	61	4	15	Возможно
J. E. Anderson и соавт. [20]	53	Н. д.	Н. д.	5	49	5	65	5	18	Возможно
G. Akpek и соавт. [21]	53	28	24%		32	10	53	10	26	Возможно
			39%		53					
P. Anderlini и соавт. [26]	40	14	5%	1,5	22	1,5	55	1,5	32	Нет
M. P. Devetten и соавт. [29]	143	67	15%	2	33	2	47	2	20	Н. д.
L. M. Burroughs и соавт. [30]	90	16	16%	2	21	2	56	2	23	Возможно
	8	0%	8% (2)	2	63	2	29			
	6	0%	9%	2	40	2	51			
S. P. Robinson и соавт. [25]	285	72	11%	3	21	5	59	3	25	Возможно
A. Claviez и соавт. [31]	91	32	Н. д.	5	26	5	44	5	30	Нет
P. Anderlini и соавт. [27]	58	28	7%	2	15	2	55	2	32	Нет
I. Alvarez и соавт. [32]	40	20	13%	1	25	NS		2	32	Возможно
K. S. Peggs и соавт. [33]	67	10	Н. д.	2	7	3	54	4	43	Возможно
		19		2	29	3	44	4	25	
A. Sureda и соавт. [34]	168	43	28%	3	48	3	30		20	Возможно
		49	15%	3	24	3	57		18	
B. Sarina и соавт. [28]	104		Н. д.	2	13	2	54	2	31	Возможно

Примечание. Н. д. — нет данных.

Таким образом, хотя снижение интенсивности режима кондиционирования у пациентов с ЛХ обеспечивает улучшение выживаемости и снижение трансплантатзависимой летальности, по сравнению с миелоаблативной аллотГСК, у них сохраняется высокий риск развития рецидивов и прогрессирования процесса.

Позитивный эффект реакции «трансплантат против лейкемии» доказан в клинической практике на протяжении последних десятилетий. Например, при хроническом миелолейкозе, или множественной миеломе, трансфузии донорских лимфоцитов (ТДЛ) применяются для лечения рецидива заболевания после аллотГСК [35—37]. Также при некоторых лимфопролиферативных заболеваниях, например, при хроническом лимфолейкозе и фолликулярной лимфоме, такой эффект был четко продемонстрирован иммунологически [38, 39]. Существование эффекта ТПЛ при ЛХ в настоящее время широко обсуждается [16, 26, 27, 40], но многие аргументы подтверждают это предположение [25, 41].

Так, I. Alvarez и соавт. выявили тенденцию к улучшению выживаемости без прогрессирования заболевания (ВБП) у пациентов с ЛХ после аллотГСК при развитии хронической РТПХ по сравнению с ее отсутствием (71% и 44% соответственно) [32]. Это подтверждается и результатами ряда других крупных исследований [25, 34]. Важную роль в развитии реакции ТПЛ при ЛХ по сравнению, например, с хроническими миелолиферативными заболеваниями играет микроокружение. В ряде работ описаны различные межклеточные взаимодействия между клетками Березовского—Штернберга (HRS) и доброкачественными клетками, которые могут привести к иммунологической толерантности [42]. Участие многочисленных механизмов находится в стадии обсуждения: 1) производство иммуносупрессивных цитокинов (например, ИЛ-10, TGF β , галектин 1, или простагландин E) клетками Березовского—Штернберга [42—46]; 2) экспрессия Fas-лигандов (CD95L) [45]; 3) снижение экспрессии HLA-антигенов класса I; 4) экспрессия HLA-G-антигенов, которые играют важную роль в торможении NK-клеток [47]; 5) экспрессия PD-1 (запрограммированной смерти) белка, снижающего иммунный ответ T-клеток и (посредством его лиганда) HRS-клеток [48]. Установлено, что это может оказывать негативное влияние на выживаемость [48, 49]. Кроме того, отмечена связь между увеличением числа опухолеассоциированных макрофагов (CD68+) с укорочением выживаемости пациентов с классическим ЛХ [50]. Таким образом, новые «целевые» подходы, такие как деплеция клеток CD68+ или использование PD-1/PD-1L-антител, в будущем можно применять для улучшения результатов лечения ЛХ [51].

Эрадикация T-клеток *in vivo* во время кондиционирования перед аллотГСК приводит к снижению вероятности развития РТПХ [59, 60]. При ЛХ некоторые агенты, разрушающие T-клетки (например, анти-CD52 моноклональное антитело — алемтузумаб), могут непосредственно влиять на опухоль [61]. Исходя из этих предположений K. S. Peggs и соавт. *in vivo* исследовали роль истощения T-клеток у 67 пациентов с реци-

дивами ЛХ, большинство из которых ранее подвергались ВДХТ с аутоТГСК. Они использовали режим флударабин/мелфалан либо с/без алемтузумаба. В течение 2 лет наблюдения кумулятивная ТЗЛ составила 7% в группе с алемтузумабом и 29% — без него. У пациентов в группе с алемтузумабом 3-летняя кумулятивная частота рецидивов (54% и 44%) и 3-летняя ВБП (43% и 25%) были выше [33]. Сложно достоверно определить, что конкретно оказало значительное влияние на снижение риска рецидива. Возможно, это могло быть связано с использованием ТДЛ у пациентов с рецидивами ЛХ. Кроме того, авторы исследования подтвердили наблюдение, что включение моноклональных антител (алемтузумаб или ритуксимаб) в режим кондиционирования существенно снижает частоту возникновения как острой, так и хронической РТПХ [62, 63].

Для лечения пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ЛХ, которым не может быть выполнена ТГСК, используются альтернативные терапевтические подходы. Они включают применение обычных или новых химиотерапевтических препаратов (гемцитабин, пентостатин) [64—71], моноклональные антитела (анти-CD20, анти-CD30) [72—76], ингибиторы гистоновой деацетилазы (вориностат) [77, 78], иммуномодулирующие препараты (талидомид, леналидомид) [79, 80] или их комбинации [81, 82]. Кроме того, недавно завершено исследование по применению нового препарата — брентуксимаба, состоящего из анти-CD30 моноклональных антител и монометилового ауристинина E, обладающего антимитотическим эффектом [83]. Общий уровень ответа в исследуемой группе пациентов составляет от 25 до 76%. Наибольшую эффективность показал гемцитабин (общий ответ — 22—76%), алкалоиды барвинка (общий ответ — 46—59%) и иммуномодулирующие препараты (общий ответ — 33—50%). Несмотря на относительно высокую эффективность, ответы не были стабильными — медиана не превышала 6 мес. Тем не менее N. L. Bartlett и соавт. сообщили о максимальной выживаемости без прогрессирования, составившей 58 мес, после применения режима, базирующегося на гемцитабине (гемцитабин, винорельбин и пегилированный липосомальный доксорубин) [65].

В 9-й городской клинической больнице Минска в течение 1995—2010 гг. ВДХТ с поддержкой аутоТГСК проведена 215 пациентам с химиорезистентными формами ЛХ. Основную группу составили лица с гистологическими типами ЛХ: нодулярный склероз (58%) и смешанноклеточный вариант (33%). Пациенты с гистологическими типами лимфоцитарного преобладания и лимфоцитарного истощения составили значительно меньшую долю — по 4%, что в целом соответствует распределению среди заболевших ЛХ в общей популяции. Распределение по стадиям болезни было следующим: I стадия — отсутствует, II — 42%, III — 46%, IV стадия — 12%. Пациенты с симптомами интоксикации составили для II стадии 53%, для III — 72%, для IV стадии — 50%. Основная группа состояла из лиц с первичной ХР и с ранним рецидивом болезни.

Большинству пациентов до выполнения аутоТГСК было проведено от 5 до 10 курсов химиотерапии в стандартных дозах. Предшествующую традиционную ХТ проводили по следующим схемам: COPP, ABVD, MOPP, AVD, CVPP, VMCP, OPRA, VACOP, ACOPP, VEP, OEP, CAMP. В 42% случаев также проводили и лучевую терапию.

Программа лечения включала курс циторедуктивной терапии dexaBEAM (дексаметазон, кармустин, этопозид, цитарабин и мелфалан). Для мобилизации стволовых клеток в периферическую кровь использовали протокол DНАР (дексаметазон, цисплатин, цитарабин) в сочетании с гранулоцитарным колониестимулирующим фактором. Перед выполнением трансплантации всем пациентам был проведен курс ВДХТ по протоколу BEAM, включающий в себя цитостатические препараты — кармустин, этопозид, цитарабин и мелфалан.

Контрольные критерии проведенного лечения представлены в табл. 2.

Таблица 2

Контрольные критерии проведенного лечения

Показатель	Критерий
Число больных	215
Возраст, лет	29 [10; 57]
Живые	125 [58%]
Живые в ремиссии	101 [47%]
Живые в рецидиве	4 [2%]
Умершие	90 [42%]
Время наблюдения живых, мес	73,9 [5,5; 191,3]
Длительность ремиссии, мес	61,4 [4,5; 191,3]
Время наблюдения умерших, мес	20,6 [0,3; 118,5]

Согласно проведенному анализу при медиане наблюдения 73,9 мес живы 125 (58%) пациентов, из них у 101 сохраняется ремиссия без признаков прогрессии ЛХ. Рецидивы заболевания развились у 92 (43%) лиц, при этом у 6 (3%) из них не было получено первичного ответа на терапию и все они погибли в течение короткого времени (медиана — 3,8 мес) после трансплантации от прогрессирования ЛХ. Именно у этой группы пациентов с неблагоприятным прогнозом может быть эффективно использована аллогенная немиелоаблативная трансплантация стволовых клеток крови.

ЛИТЕРАТУРА

- Connors J. M. // *J. Clin. Oncol.*— 2005.— Vol. 26, № 23.— P. 6400—6408.
- Linch D. C., Winfield D. // *Lancet.*— 1993.— Vol. 341, № 8852.— P. 1051—1054.
- Schmitz N. // *Lancet.*— 2002.— Vol. 339, № 9323, № 359.— P. 2065—2071.
- Dominguez A. R., Marquez A. // *Ann. Oncol.*— 2004.— Vol. 15, № 12.— P. 1798—1804.
- Meyer R. M., Gospodarowicz M. K. // *J. Clin. Oncol.*— 2005.— Vol. 23, № 21.— P. 4634—4642.
- Hasenclever D., Diehl V. // *N. Engl. J. Med.*— 1998.— Vol. 339, № 21.— P. 1506—1514.
- Kewalramani T., Nimer S. D., Zelenetz A. D., et al. // *Bone Marrow Transplant.*— 2003.— Vol. 32, № 7.— P. 673—679.
- Paltiel O., Rubinstein C. // *Bone Marrow Transplant.*— 2003.— Vol. 31, № 7.— P. 565—569.
- Lavoie J. C., Connors J. M. // *Blood.*— 2005.— Vol. 106, № 4.— P. 1473—1478.
- Moskowitz A. J., Perales M.-A. // *Br. J. Haematol.*— 2009.— Vol. 146, № 2.— P. 158—163.
- Validire P. A., Ferme C. // *Anticancer Drugs.*— 2008.— Vol. 19, № 3.— P. 309—315.
- Lin T. S., Avalos B. R., Penza S. L., et al. // *Bone Marrow Transplant.*— 2002.— Vol. 29, № 9.— P. 763—767.
- Appelbaum F. R., Sullivan K. M., Thomas E. D., et al. // *J. Clin. Oncol.*— 1985.— Vol. 4, № 3.— P. 1490—1494.
- Phillips G. L., Reece D. E. // *J. Clin. Oncol.*— 1989.— Vol. 8, № 7.— P. 1039—1045.
- Jones R. J., Ambinder R. F., Piantadosi S., et al. // *Blood.*— 1991.— Vol. 77, № 3.— P. 649—653.
- Gajewski J. L., Phillips G. L. // *J. Clin. Oncol.*— 1996.— Vol. 14, № 2.— P. 572—578.
- Slavin S., Nagler A. // *Blood.*— 1998.— Vol. 91, № 3.— P. 756—763.
- Khoury I. F., Keating M. // *J. Clin. Oncol.*— 1998.— Vol. 16, № 8.— P. 2817—2824.
- Milpied N., Fielding A. K., Pearce R. M., et al. // *J. Clin. Oncol.*— 1996.— Vol. 14, № 4.— P. 1291—1296.
- Anderson J. E., Litzow M. R. // *J. Clin. Oncol.*— 1993.— Vol. 12, № 11.— P. 2342—2350.
- Akpek G., Ambinder R. F. // *J. Clin. Oncol.*— 2001.— Vol. 23, № 19.— P. 4314—4321.
- Cooney J. P., Stiff P. J., Toor A. A., Parthasarathy M. // *Biol. Blood Marrow Transplant.*— 2003.— Vol. 9, № 3.— P. 177—182.
- Giralt S., Estey E. // *Blood.*— 1997.— Vol. 89, № 12.— P. 4531—4536.
- Storb R., Sureda A. // *Blood.*— 1997.— Vol. 89, № 8.— P. 3048—3054.
- Robinson S. P., Yu C. // *Haematologica.*— 2009.— Vol. 94, № 2.— P. 230—238.
- Anderlini P., Saliba R. // *Bone Marrow Transplant.*— 2005.— Vol. 35, № 10.— P. 943—951.
- Anderlini P., Saliba R. // *Haematologica.*— 2008.— Vol. 93, № 2.— P. 257—264.
- Sarina B., Castagna L. // *Blood.*— 2010.— Vol. 115, № 18.— P. 3671—3677.
- Devetten M. P., Hari P. N. // *Biol. Blood Marrow Transplant.*— 2009.— Vol. 15, № 1.— P. 109—117.
- Burroughs L. M., O'Donnell P. V. // *Biol. Blood Marrow Transplant.*— 2008.— Vol. 14, № 11.— P. 1279—1287.
- Claviez A., Canals C. // *Blood.*— 2009.— Vol. 114, № 10.— P. 2060—2067.
- Alvarez I., Sureda A. // *Biol. Blood Marrow Transplant.*— 2006.— Vol. 12, № 2.— P. 172—183.
- Peggs K. S., Sureda A. // *Br. J. Haematol.*— 2007.— Vol. 139, № 1.— P. 70—80.
- Sureda A., Robinson S. // *J. Clin. Oncol.*— 2008.— Vol. 26, № 3.— P. 455—462.
- Kolb H.-J., Schattenberg A. // *Blood.*— 1995.— Vol. 86, № 5.— P. 2041—2050.
- Porter D. L., Roth M. S., McGarigle C., et al. // *N. Engl. J. Med.*— 1994.— Vol. 330, № 2.— P. 100—106.
- Tricot G., Vesole D. H., Jagannath S., et al. // *Blood.*— 1996.— Vol. 87, № 3.— P. 1196—1198.
- Grigg A., Ritchie D. // *Biol. Blood Marrow Transplant.*— 2004.— Vol. 10, № 9.— P. 579—590.
- Maris M. B., Sandmaier B. M. // *Blood.*— 2004.— Vol. 104, № 12.— P. 3535—3542.
- Claviez A., Klingebiel T. // *Ann. Hematol.*— 2004.— Vol. 83, № 4.— P. 237—241.
- Peggs K. S., Hunter A. // *Lancet.*— 2005.— Vol. 365, № 9475.— P. 1934—1941.
- Chemnitz J. M., Driesen J. // *Cancer Res.*— 2006.— Vol. 66, № 2.— P. 1114—1122.
- Chemnitz J. M., Eggle D. // *Blood.*— 2007.— Vol. 110, № 9.— P. 3226—3233.
- Kuppers R. // *Nature Rev. Cancer.*— 2009.— Vol. 9, № 1.— P. 15—27.

45. Poppema S., Potters M., Visser L., van Den Berg A. M. // *Ann. Oncol.*— 1998.— Vol. 9 (Suppl. 5).— P. S21—S24.
46. Skinnider B. F., Mak T. W. // *Blood.*— 2002.— Vol. 99, № 12.— P. 4283—4297.
47. Diepstra A., Poppema S. // *Tis. Antig.*— 2008.— Vol. 71, № 3.— P. 219—226.
48. Yamamoto R., Nishikori M. // *Blood.*— 2008.— Vol. 111, № 6.— P. 3220—3224.
49. Muenst S., Hoeller S., Dirnhofer S., Tzankov A. // *Hum. Pathol.*— 2009.— Vol. 40, № 12.— P. 1715—1722.
50. Steidl C., Lee T. // *N. Engl. J. Med.*— 2010.— Vol. 362, № 10.— P. 875—885.
51. Hirano F., Kaneko K. // *Cancer Res.*— 2005.— Vol. 65, № 3.— P. 1089—1096.
52. Carella A. M., Cavaliere M. // *J. Clin. Oncol.*— 2000.— Vol. 18, № 23.— P. 3918—3924.
53. Tzankov A., Meier C., Hirschmann P., et al. // *Haematologica.*— 2008.— Vol. 93, № 2.— P. 193—200.
54. Barbon C. M., Yang M., Wands G. D., et al. // *Cell. Immunol.*— 2010.— Vol. 262, № 2.— P. 150—161.
55. Greten T. F., Ormandy L. A. // *J. Immunother.*— 2010.— Vol. 33, № 2.— P. 211—218.
56. Majhail N. S., Weisdorf D. J., Wagner, J. E., et al. // *Blood.*— 2006.— Vol. 107, № 9.— P. 3804—3807.
57. Frankovich J., Donaldson S. S., Lee Y., et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.*— 2001.— Vol. 7, № 1.— P. 49—57.
58. Lieskovsky Y. E., Donaldson S. S., Torres M. A., et al. // *J. Clin. Oncol.*— 2004.— Vol. 22, № 22.— P. 4532—4540.
59. Kennedy-Nasser A. A., Bollard C. M., et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.*— 2008.— Vol. 14, № 11.— P. 1245—1252.
60. Malladi R. K., Peniket A. J. // *Bone Marrow Transplant.*— 2009.— Vol. 43, № 9.— P. 709—715.
61. Schreck S., Friebel D., Buettner M., et al. // *Hematol. Oncol.*— 2009.— Vol. 27, № 1.— P. 31—39.
62. Besien K. V., Kunavakkam R., Rondon G., et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.*— 2009.— Vol. 15, № 5.— P. 610—617.
63. van Dorp S., Pietersma F. // *Biol. Blood Marrow Transplant.*— 2009.— Vol. 15, № 6.— P. 671—678.
64. Aurer I., Radman I., Nemet D., et al. // *Onkologie.*— 2005.— Bd 28, № 11.— S. 567—571.
65. Bartlett N. L., Niedzwiecki D. // *Ann. Oncol.*— 2007.— Vol. 18, № 6.— P. 1071—1079.
66. Cole P. D., Schwartz C. L., Drachtman R. A., et al. // *J. Clin. Oncol.*— 2009.— Vol. 27, № 9.— P. 1456—1461.
67. Devizzi L., Santoro L. A., Bonfante L. V., et al. // *Ann. Oncol.*— 1994.— Vol. 5, № 9.— P. 817—820.
68. Little R., Wittes R. E., Longo D. L., Wilson W. H. // *J. Clin. Oncol.*— 1998.— Vol. 16, № 2.— P. 584—588.
69. Spencer A., Reed K., Arthur C. // *Int. Med. J.*— 2007.— Vol. 37, № 11.— P. 760—766.
70. Venkatesh H., Di Bella N., Flynn T. P., et al. // *Clin. Lymphoma.*— 2004.— Vol. 5, № 2.— P. 110—115.
71. Braiteh F., Ng C., Kurzrock R. // *Leukemia Lymphoma.*— 2006.— Vol. 47, № 2.— P. 373—375.
72. Leonard J. P., Younes A., Rosenblatt J. D., et al. // *J. Clin. Oncol.*— 2005.— Vol. 23, № 16S.— P. 2005.
73. O'Mahony D., Janik J. E., Carrasquillo J. A., et al. // *ASH Ann. Meet. Abstr.*— 2008.— Vol. 112.— P. 2586.
74. Schnell R., Dietlein M. // *J. Clin. Oncol.*— 2005.— Vol. 23, № 21.— P. 4669—4678.
75. Younes A., Wong F. // *Ann. Oncol.*— 2009.— Vol. 20, № 6.— P. 1147—1148.
76. Younes A., Romaguera J. // *Cancer.*— 2003.— Vol. 98, № 2.— P. 310—314.
77. Bociek R. G., Kuruvilla J., Proet B., et al. // *J. Clin. Oncol.*— 2008.— Vol. 26, № 15.— P. 8507.
78. O'Connor O. A., Heaney M. L. // *J. Clin. Oncol.*— 2006.— Vol. 24, № 1.— P. 166—173.
79. Boll B., Borchmann P., Topp M. S., et al. // *Br. J. Haematol.*— 2010.— Vol. 148, № 3.— P. 480—482.
80. Fehninger T. A., Larson S., Trinkaus K., et al. // *Blood.*— 2008.— Vol. 112 (ASH Annual Meeting Abstracts).
81. Oki Y., Pro B. // *Cancer.*— 2008.— Vol. 112, № 4.— P. 831—836.
82. Reiners K. S., Gossmann A., van Strandmann E. P., et al. // *J. Immunother.*— 2009.— Vol. 32, № 5.— P. 508—512.

Посмупила 16.03.12.

HEMATOPOIETIC STEM CELLS ALLOGENETIC TRANSPLANTATION ROLE IN MANAGING PATIENTS SUFFERING FROM HODGKIN'S LYMPHOMA RELAPSES OR REFRACTORY FORMS

A. L. Uss

Adequate first line chemotherapy does not allow provide a complete remission in 5—20% of patients suffering from Hodgkin's lymphoma (HL) or when a remission had been achieved the disease reoccurred. The method of high-dose chemotherapy stipulating the dose marked escalation accompanied by autologous hematopoietic stem cells transplantation has been used widely when the HL course is unfavorable. However 20—40% of patients having undergone autotransplantation of hematopoietic stem cells demonstrate relapses. The long time survival of those patients does not exceed 20%. Standard strategies for managing those patients do not exist. Introduction of allogeneic hematopoietic stem cells transplantation into the protocol for HL complex treatment accompanied by less intensive conditioning has lead to an improvement of both — the quality of life features and the final results: values evidencing about a remission achievement, the total and relapse-free survivals.

Key words: Hodgkin's lymphoma, allogeneic hematopoietic stem cells transplantation, high-dose chemotherapy.

Адрес для корреспонденции:

Усс Анатолий Леонидович.
9-я городская клиническая больница.
220116, г. Минск, ул. Семашко, 8; сл. тел. (8-017) 272-46-35.

Г. И. ГЕРАСИМОВИЧ

ОСОБЕННОСТИ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Белорусский государственный медицинский университет

Рассматривается функция репродуктивного здоровья при сложившейся демографической ситуации в республике и при высоком уровне экстрагенитальной и генитальной патологии у женщин фертильного возраста. Оценивается здоровье девочек-подростков в качестве «резерва родов» и его роль в формировании репродуктивной функции женщин детородного возраста. Показана возможность сохранения и укрепления репродуктивного здоровья путем планирования беременности с целью рождения здорового поколения.

Ключевые слова: репродуктивное здоровье, демография, рождаемость, заболеваемость, беременность.

Проблема здоровья человека является самой сложной и актуальной. Здоровье — это первая и важнейшая потребность человека, определяющая его способность к труду и обеспечивающая гармоническое развитие личности. Оно является бесценным достоянием не только каждого человека, но и всего общества. Это универсальное благо, обеспечивающее условия для полноценной жизни как высшей ценности человечества. Хорошее здоровье является главным ресурсом для социального и экономического развития и фундаментом устойчивости социальной системы, а также основой сильного государства и важнейшим условием качества жизни для нас и наших потомков [1, 2].

Среди многочисленных определений здоровья широко используется определение Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), которая рассматривает здоровье как состояние полного физического, духовного и социального благополучия, а не только как отсутствие болезней и инвалидности. Следовательно, у здорового человека есть возможность успешно решать основные жизненные задачи, сохранять и развивать способность полноценно трудиться и отдыхать, выполнять присущие человеку функции при хорошем уровне и качестве жизни.

Важнейшей составляющей частью общего здоровья человека является репродуктивное и сексуальное здоровье, под которым, по рекомендациям Международной конференции по народонаселению и развитию (Каир, 1994), также подразумевается полное физическое, духовное и социальное благополучие, а не просто отсутствие заболеваний репродуктивной системы, нарушения ее функций и процессов, включая воспроизводство. Следовательно, понятие «репродуктивное здоровье» включает в себя и сексуальное здоровье, под которым понимают состояние, позволяющее человеку в полной мере испытывать половое влечение и реализовывать его, получая при этом удовлетворение и возможность для воспроизводства поколений. При этом люди самостоятельно могут принимать решение, как о своей сексуальной активности, так и о деторождении, когда и как часто

это делать. В этом плане репродуктивное и сексуальное здоровье является одним из основных прав человека. Оно занимает центральное место в развитии человека, оказывая влияние на все стороны жизни общества, формирует благоприятные демографические перспективы страны, является фактором национальной безопасности, критерием эффективности социальной и экономической межведомственной политики государства [3—5].

Однако репродуктивное здоровье понятие субъективное, так как его состояние изменчиво и в последнее время значительно ухудшилось, что обусловлено социально-экономическими и экологическими изменениями, снижающими качество жизни большинства населения. Основными особенностями репродуктивного здоровья в настоящее время следует считать его ведущую роль в воспроизводстве поколений при неблагоприятной демографической ситуации, наличие у женщин высокого уровня экстрагенитальной патологии, заболеваний репродуктивных органов преимущественно инфекционного характера, передающихся половым путем, и бесплодие.

Оценить состояние репродуктивного здоровья весьма сложно, так как специальных методов для этой цели пока не разработано. Поэтому о его состоянии судят по отдельным составляющим, преимущественно по уровню рождаемости и показателям здоровья у женщин и детей, интегрированным отображением которых является материнская, младенческая и детская смертность. В настоящее время для оценки состояния репродуктивного здоровья используют сравнительные демографические показатели рождаемости и здоровья населения, его заболеваемости и инвалидность [6]. Ряд российских авторов предлагают в комплексной оценке репродуктивного здоровья семьи использовать наличие факторов риска формирования патологии репродуктивной системы, а именно наследственный фактор, экологические вредности, стрессовое воздействие, вредные привычки, характер питания, уровень санитарно-гигиенических знаний, соматическую патологию [7]. Изучение причин, обуславливающих здоровье человека, в том числе и репродуктивного, свидетельствует, что оно преимущественно определяется образом жизни (50—52%), генетическими (18—25%) и экологическими (20—25%) факторами, и только 10—15% зависит от здравоохранения. Данные цифры дают основание для признания ведущей роли в детерминации здоровья человека социальных факторов [8, 9].

Существенное значение для оценки репродуктивного здоровья имеют показатели естественного движения населения. Впервые в Республике Беларусь неблагоприятное соотношение рождаемости и смертности определилось в 1993 г., что привело к депопуляции, которая продолжается и в настоящее время. Депопуляция в Беларуси — не уникальное явление в мире, она наблюдается во многих странах Европы. Абсолютная численность населения в стране начала снижаться с 1994 г. Уже более 17 лет в Республике Беларусь годовая численность умерших превышает численность родившихся, и население в стране

постоянно уменьшается. Так, с 1994 г. население страны сократилось на 863,9 (8,4%) тыс. человек и на начало 2011 г. составило 9481,2 тыс. В результате по численности населения Беларусь неуклонно сдвигается в сторону более мелких государств. По данным переписи населения 2009 г., численность женского населения составила 53,5% от общего населения страны. Доля женщин репродуктивного возраста (15—49 лет) среди женского населения составила 48,1%, а женщин активного репродуктивного возраста (20—34 года) — лишь 21,5%, на долю которых в 2009 г. приходилось 85,4% родов. В настоящее время женщин в активном детородном возрасте на 40,8 тыс. больше, чем их было в 1999 г., даже при снижении на 7,7% общей численности женщин фертильного возраста за этот же период. Очевидно, это можно объяснить тем, что в активный репродуктивный возраст вступили женщины, родившиеся в первой половине 80-х годов, когда в республике наблюдался высокий уровень рождаемости. При вступлении женщин в активный детородный возраст, родившихся в 90-х годах прошлого столетия при резком спаде рождаемости, очевидно, следует ожидать снижение численности женщин активного репродуктивного возраста и, следовательно, дальнейшего снижения рождаемости [10—12].

В современных условиях воспроизводство потомства определяется биологическими факторами, влияющими на способность организма к зачатию, оплодотворению, вынашиванию плода, а также уровнем и динамикой рождаемости. Для суждения об уровне рождаемости важен выбор статистических показателей. Одним из них является суммарный коэффициент рождаемости, который более адекватно, чем общий отражает интенсивность рождаемости в стране и не зависит от возрастной структуры населения. Он показывает, сколько детей в среднем рождает одна женщина за весь детородный период жизни (с 15 до 50 лет). В настоящее время для обеспечения простого воспроизводства населения уровень суммарного коэффициента рождаемости в Беларуси должен составлять в среднем 2,2 ребенка. Такой суммарный коэффициент рождаемости был в Беларуси в середине 70-х годов прошлого века. В 2010 г. этот показатель равнялся 1,494, что обеспечивало воспроизводство населения в стране лишь на 68% [13, 14].

В результате реализации комплекса мероприятий, предусмотренных программой «Дети Беларуси» на 2006—2010 гг. и «Национальной программой демографической безопасности Республики Беларусь на 2007—2010 гг.» достигнуты определенные успехи. За 2005—2010 гг. снизились: материнская смертность — в 3 раза; младенческая — с 7,1 до 4,0; детская — с 9,3 до 5,4 на 1000 детей, родившихся живыми; а также неонатальная — с 3,2 до 1,7‰ с учетом младенцев, родившихся с массой тела 500—999 г. Повысился общий показатель рождаемости с 9,4 до 11,4 при относительно стабильном коэффициенте общей смертности (14,5), что сохраняет суммарный показатель рождаемости на низком уровне (1,494) [15—17].

Поступательное снижение неонатальной, младенческой, детской и материнской смертности обуслов-

лено усилением внимания к службе охраны материнства и детства. Этому способствовало переоснащение родильных отделений современным медицинским оборудованием; внедрение высокотехнологичных методов диагностики и лечения; пренатальная диагностика наследственных и врожденных заболеваний; успешное развитие службы неонатологии, включая организацию разноуровневых перинатальных центров и их реконструкцию; повышенное внимание к детской и подростковой гинекологии; улучшение качества наблюдения за женщинами на этапе беременности и родов. Однако уровень достигнутых успехов недостаточен для стабилизации численности населения страны. В результате республика, как и раньше, не воспроизводит свое население, и его численность продолжает уменьшаться. Задача повышения интенсивности рождаемости в сегодняшней крайне сложной социально-экономической ситуации серьезно осложняется. Падение доходов населения и, соответственно, уровня жизни может привести к воздержанию в семье от планирования беременности [4].

С учетом сложившейся демографической ситуации и прогнозируемых демографических тенденций 11 августа 2011 г. Президентом утверждена очередная «Национальная программа демографической безопасности Республики Беларусь на 2011—2015 гг.». Концепция программы включает ряд мер, направленных на стимулирование рождаемости и социально-экономическую поддержку семьи, сохранение института семьи, укрепление здоровья и увеличение продолжительности жизни населения, снижение смертности, оптимизацию миграционных процессов. Государственная поддержка семьи включает меры жилищного стимулирования, льготы кредитной и налоговой политики. Планируется увеличение единовременных и ежемесячных пособий, предоставление большей помощи при погашении льготных кредитов молодым и многодетным семьям. В результате реализации программы ожидается, что наступит стабилизация демографической ситуации и будет обеспечен переход к демографическому росту. Целевые ориентиры выполнения программы предусматривают: увеличение суммарного коэффициента рождаемости до 1,5—1,6; стабилизацию и снижение младенческой смертности до 3,8 на 1000 младенцев, рожденных живыми; увеличение до 40% удельного веса родов без осложнений; снижение смертности трудоспособного населения до 5 на 1000 человек; увеличение ожидаемой продолжительности жизни до 72—73 лет. Реализация Национальной программы будет способствовать формированию тенденций к росту рождаемости; повышению качества жизни семей с детьми; улучшению показателей здоровья населения; увеличению ожидаемой продолжительности жизни [4, 15].

К особенностям репродуктивного здоровья следует отнести также его функциональное состояние при наличии у женщины экстрагенитальной патологии, уровень которой за последние годы значительно возрос. В структуре заболеваемости преобладают болезни сердечно-сосудистой системы, почек, печени, желудочно-кишечного тракта, нарушения жирового

обмена. Они являются важнейшими составляющими в комплексной оценке репродуктивного здоровья. Экстрагенитальная заболеваемость у беременных в республике постоянно увеличивается за счет продолжающихся кризисных явлений в экономике и снижения качества жизни населения, а также за счет успешного развития других направлений медицины. В настоящее время женщины, обреченные на трудное существование и раннюю смерть, доживают не только до половой зрелости, но даже имеют возможность выполнять генеративную функцию. В связи с этим на сегодняшний день 70—80% беременных женщин имеют те или иные хронические заболевания, которые снижают качество внутриутробного развития плода и приводят к снижению здоровья детей [4, 18].

Экстрагенитальная патология является хроническим неблагоприятным преморбидным фоном для созревания половых клеток, когда, кроме наследственной детерминации ряда заболеваний, не исключается возможность появления новых мутаций с трансформацией нормальных генов в патологические, что снижает качество внутриутробного развития плода и приводит к снижению здоровья детей. Общеизвестно, что состояние здоровья ребенка во многом определяется состоянием здоровья родителей до беременности.

Хотя беременность является естественным состоянием женского организма, ее следует рассматривать как экстремальное состояние, при котором создается определенное напряжение всех систем и органов при их функционировании с возможной декомпенсацией. Согласно положению об общем адаптационном синдроме беременности можно рассматривать как хронический стресс, при котором все органы и системы адаптируются к беременности, сохраняя ее и обеспечивая жизнедеятельность и развитие плода. При беременности значительно угнетается иммунная система человека, происходит депрессия иммунной реактивности, чтобы не наступило отторжения плода как инородного тела. При адаптации к беременности у женщин с наличием экстрагенитальной патологии могут развиваться различные осложнения (инфицирование родовых путей и плодного яйца, невынашивание беременности, гестоз, задержка развития или внутриутробная гибель плода и др.). Состояние здоровья матери и осложнения на протяжении беременности и родов определяют возрастание числа оперативных методов родоразрешения и определяют перинатальные потери и заболеваемость новорожденных. Нормальные роды составляют в среднем всего лишь 30% случаев. Состояние здоровья беременных имеет четкую социальную обусловленность и во многом определяется условиями и образом жизни. Наиболее существенное влияние на состояние здоровья беременных оказывают питание, вредные привычки, психологическая обстановка, профессиональные вредности, качество медицинской помощи и другие медико-социальные факторы. Следовательно, одной из первоочередных мер, направленных на сохранение и укрепление здоровья беременных, должно быть улучшение их материального обеспечения.

Кроме того, специальные исследования показывают, что в активном репродуктивном возрасте 40—60% женщин страдают гинекологическими заболеваниями, однако не все они обращаются к врачу. Следовательно, гинекологические заболевания также имеют высокую распространенность и могут оказывать негативное влияние на репродуктивную функцию женщин. Они могут приводить к бесплодию, невынашиванию беременности, осложнениям в период беременности и родов, влияя на состояние здоровья новорожденного.

Повышенная нагрузка при беременности на все органы и системы организма в свою очередь оказывает неблагоприятное влияние на течение основного заболевания. Иммунная перестройка женского организма, изменение нейроэндокринной регуляции приводят в большинстве случаев к обострению хронических заболеваний, прогрессированию и ухудшению течения заболеваний, особенно тех, которые во время беременности были в стадии неустойчивой компенсации.

Особенностью репродуктивного здоровья является и то, что сексуальная и репродуктивная функции могут проявляться у девочек при физической незрелости и психологической неготовности к материнству, отражаясь на состоянии их здоровья. Низкие показатели репродуктивного здоровья у молодежи, вступающей в фертильный возраст, характеризуют кризисную демографическую ситуацию. Для Беларуси охрана репродуктивного здоровья молодежи — это также сохранение репродуктивного и демографического потенциала страны, который в оптимальном варианте может воспроизводить здоровое потомство и обеспечивать баланс общего здоровья населения [22]. По данным ВОЗ, удельный вес медицинских проблем в формировании здоровья людей составляет не более 10—12%. Медицинские аспекты сохранения здоровья имеют значительно большее значение в раннем детстве, так как большинство причин, формирующих состояние здоровья человека в будущем, обусловлены факторами, влияющими на беременность, роды и первый год жизни ребенка [12, 13, 18].

Группа девочек-женщин до детородного возраста рассматривается как репродуктивный потенциал или резерв родов. Это воспринимается как уровень физического и психического состояния, позволяющего по достижении социальной зрелости воспроизводить здоровое потомство [6, 9, 19—21]. К сожалению, за последние 20 лет численность этой возрастной группы женского населения (0—14 лет) постоянно уменьшалась. После переписи 1989 г. их численность уменьшилась на 466 095 (7,8%) и в 2009 г. составила лишь 680 721 человек. Следовательно, если динамика интенсивности рождаемости останется на прежнем уровне, то численность женщин активного фертильного возраста, от которых существенно зависит количество рожденных в стране детей, будет снижаться и в перспективе может возникнуть проблема замещения собственного поколения [17].

Кризисная демографическая ситуация характеризуется низкими показателями репродуктивного здоровья молодежи, вступающей в фертильный возраст. Общеизвестно, что состояние здоровья ребенка во

многим зависит от состояния здоровья его матери. В то же время здоровье женщин фертильного возраста определяется условиями ее развития в утробе матери, закладывается с первых дней жизни, в детстве и подростковом возрасте. В это время происходит становление общесоматического здоровья будущих матерей, нередко возникают многие органические и функциональные заболевания женских половых органов, закладывается фундамент сексуального поведения, формируются репродуктивные установки.

Следовательно, трудно ожидать, что больная мать родит здорового ребенка. Больной ребенок ведет к заболеванию девочек-подростков. Они в свою очередь обеспечивают болезнь женщин фертильного возраста. Возникает порочный замкнутый круг: больная женщина (родители) — больной ребенок — больная девочка-подросток — и опять же больная женщина. Разорвать этот порочный круг является одной из важнейших задач здравоохранения. Только сохранение и укрепление здоровья молодежи, вступающей в детородный возраст, способствует формированию репродуктивного здоровья женщины и рождению здорового ребенка. Этим подтверждается известное правило, что здоровый ребенок может родиться только от здоровых родителей [9, 23].

Состояние и структура репродуктивного здоровья во многом определяется условиями и образом жизни [9]. Среди множества медико-социальных факторов, влияющих на репродуктивную систему девочек и девушек, значатся и такие, как социальное неравенство, бедность, плохое питание, злоупотребление курением, алкоголем, наркотиками, сексуальная безграмотность и ранняя сексуальная активность, инфекционные заболевания, депрессии, неврозы и др. За последние 10—15 лет резкое возрастание сексуальной активности молодежи ведет к росту числа аборт у несовершеннолетних, увеличению количества заболеваний, передающихся половым путем, возрастает число родов у юных матерей [9]. С возрастом наблюдается накопление хронической патологии, и когда девушка вступает в репродуктивный возраст, она уже имеет несколько заболеваний, оказывающих влияние на репродуктивную функцию. Среди них преобладают болезни нервной системы, органов дыхания, психические расстройства и расстройство поведения, болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани. Все это способствует возникновению воспалительных процессов половых органов и приводит к нарушению соматического и психического здоровья. Уже в подростковом возрасте 66,12% девочек имеют экстрагенитальную заболеваемость и 46,6% — генитальную патологию [19]. Комплексное исследование репродуктивного потенциала как мальчиков, так и девочек указывает на его низкое качество [20, 22]. Объективная оценка его у девочек позволяет прогнозировать демографическую ситуацию, состояние здоровья будущих беременных, рожениц и родильниц, а также рожденных ими детей [24, 25].

Важным показателем состояния репродуктивного здоровья является бесплодие (неспособность зрелого организма к зачатию) и аборты. По данным отече-

ственных и зарубежных ученых, частота бесплодия в развивающихся странах составляет 10—20%. В Беларуси распространение первичного и особенно вторичного бесплодия среди супружеских пар составляет 14,3%, что можно рассматривать как прямые репродуктивные потери. Причины бесплодия часто имеют социальную обусловленность, так как оно может являться следствием абортов, перенесенных воспалительных гинекологических заболеваний, неудачных родов. Нередко бесплодие формируется еще в детском возрасте, а иногда и антенатально. Бесплодие — важная медико-социальная проблема, приводящая к снижению рождаемости. Кроме того, оно является серьезной социально-психологической проблемой, поскольку часто приводит к социально-психологическому дискомфорту супругов, конфликтным ситуациям в семье, росту числа разводов [9].

Аборт и его последствия также существенно влияют на состояние репродуктивного здоровья и на течение последующих беременностей и родов. Особенно опасен аборт при первой беременности у молодых девушек, организм которых еще недостаточно созрел, поэтому его отрицательные последствия у них могут быть еще более тяжелыми. Любой аборт — это риск, который может привести к бесплодию. Большинство наших сограждан знают об основных способах предохранения от нежелательной беременности и успешно их используют. Число абортов в Беларуси значительно снизилось с 106,0 на 1000 женщин в возрасте 15—49 лет в 1990 г. до 13,5 на 1000 женщин фертильного возраста в 2010 г. и стало меньше числа родов. Однако уровень производимых абортов по-прежнему остается очень высоким. После аборта нередко возникают различные осложнения беременности, такие как угроза ее прерывания, истмико-цервикальная недостаточность, эндометрит, низкое прикрепление плаценты, разрыв и перфорация матки, гемолитическая болезнь, представляющие угрозу здоровью матери и ребенка [26].

Таким образом, состояние репродуктивного здоровья, создающего основу для воспроизводства здорового поколения, является преимущественно отражением здоровья в детском и подростковом возрасте, репродуктивный потенциал которых находится на крайне низком уровне, что усугубляет и без того неблагоприятную демографическую ситуацию в стране. При сложившейся ситуации трудно ожидать в ближайшие годы улучшение показателей, характеризующих состояние здоровья беременных, течения беременности и родов, здоровья новорожденных и детей раннего возраста. Следовательно, охрана репродуктивного и сексуального здоровья девочек как будущих матерей является актуальной медико-социальной проблемой, требующей неотложного решения [9, 27].

Сохранение и укрепление репродуктивного здоровья подростков возможно при формировании устойчивой мотивации на здоровый образ жизни путем проведения более масштабной информационно-просветительской работы по проблемам репродуктивного и сексуального здоровья среди различных групп населения, включая подростков и молодежь. Важнейшей задачей по охране сексуального и репродуктивного

здоровья молодежи является создание услуг, которые отвечали бы их запросам, обеспечивали полную конфиденциальность и были материально доступны.

Начатая в республике подготовка социальных педагогов должна быть продолжена с учетом изменений, происходящих в социально-экономическом и политическом развитии общества. Проведение мониторинга состояния репродуктивного и сексуального здоровья подростков и молодежи, изучение их поведения и факторов риска должно стать основанием для разработки и внедрения программ безопасного материнства и детства [3, 28—31].

Учитывая наличия существующих крайне неблагоприятных показателей здоровья девочек и женщин, с нашей точки зрения, в настоящее время следует первостепенное внимание обратить на подготовку будущих родителей к предстоящей беременности, которая вместе с последующим повышением качества оказания акушерской помощи во время беременности и родов будет способствовать увеличению рождения здоровых детей.

При всем многообразии форм сохранения и укрепления репродуктивного здоровья можно выделить услуги по планированию семьи, которые преимущественно касаются вопросов регулирования деторождения. В Беларуси развита широкая сеть кабинетов по планированию семьи во всех регионах. Созданные кабинеты в женских консультациях и даже центры планирования семьи в основном регулируют число детей в семьях, сроки их рождения, предупреждают наступление нежелательной беременности и проводят лечение бесплодия с внедрением новых репродуктивных медицинских технологий, включающих внутриматочную инсеминацию женщины спермой мужа или донора, экстракорпоральное оплодотворение и вынашивание эмбриона суррогатной матерью. Все эти мероприятия предпринимаются для повышения рождаемости как главной причины наблюдаемой депопуляции. Обобщающих сведений, соответствующих доказательной медицине, о состоянии здоровья матери и ребенка в отдаленный период после этих мероприятий недостаточно. Уровень же рождаемости показывает лишь количественную сторону народонаселения без оценки состояния здоровья общества.

В Республике Беларусь последовательно проводится работа по реализации Концепции охраны репродуктивного здоровья, сформулированной на Международной каирской конференции в разделе «Репродуктивное здоровье: проблемы и возможности». В ней предусматривается содействие безопасному и ответственному поведению, особенно в подростковом возрасте; снижению числа абортотворений; профилактике, своевременному выявлению и лечению инфекций, передающихся половым путем; охране прегравидарного здоровья и обязательной прегравидарной подготовке; лечению бесплодия; обеспечению эффективной антенатальной охраны плода и безопасного материнства; созданию службы планирования семьи; вовлечению мужчин в процесс охраны репродуктивного здоровья.

По причинам происхождения беременность различают как случайную или нежелательную и плановую.

Под случайной беременностью подразумевается, когда она возникает при отсутствии в семье взаимопонимания и единодушия и является нежелательной или неожиданной. Мотивы сохранения такой беременности зависят главным образом от личностных установок женщины и социальных нормативов общества, в котором она живет. Они могут быть обусловлены: желанием сохранить собственное здоровье, более близкие отношения с мужем и удержать его рядом; просьбой мужа или значимого мужчины; психологической потребностью женщины в материнстве; получением материальной выгоды и определенных льгот и другими факторами. В России до 30% женщин вынашивают нежелательную беременность [32].

Как правило, случайная беременность в значительном количестве случаев не вынашивается или заканчивается неблагоприятными последствиями. Среди них наиболее часто встречаются аборты, осложнение беременности и родов, прерывание беременности по медицинским и социальным показаниям, отказ и избавление от детей (криминал), заболеваемость и инвалидность детей, неполноценное развитие репродуктивной системы и др. Нежеланных детей рожают преждевременно примерно в 8 раз чаще, чем желанных. У доношенных нежеланных детей в 45% случаев наблюдаются признаки морфофункциональной незрелости. После родов при нежелательной беременности в интенсивной терапии нуждаются 46,9% новорожденных, а при желанной таких детей в 3 раза меньше [33]. Вынашивание нежелательной беременности всегда сопровождается негативными эмоциональными переживаниями. Сильные и устойчивые переживания матери, вынашивающей нежелательную беременность, отражающиеся на ее физическом состоянии, могут послужить причиной нарушений развития ребенка [37].

Планирование беременности является важной составной частью планирования семьи. Оно предусматривает подготовку женщины (родителей) к предстоящей беременности с целью рождения здорового ребенка. В последнее время о планировании беременности много говорится и пишется. Однако, как показывает статистика, она планируется лишь в 10% случаев. При планировании беременности первостепенным является психосоматическая подготовка будущих родителей к предстоящей беременности с последующим повышением качества оказания акушерской помощи во время беременности и родов, что будет способствовать увеличению рождения здоровых детей.

Рождение ребенка — одно из самых знаменательных, важных и волнительных событий в жизни каждой семьи. Если молодая пара решила иметь ребенка, то ей нельзя упускать такой важный и ответственный момент, как планирование беременности. Под планированием понимают решение двух взрослых людей родить ребенка, которые психологически готовы к такому важному решению и осознанно несут ответственность за свое здоровье и здоровье будущего ребенка. Такое решение способствует благоприятному течению беременности, профилактике осложнений и рождению здорового, желанного потомства. Можно с уве-

ренностью утверждать, что ребенок в семье должен быть не просто желанным, но и здоровым, поэтому к его зачатию и рождению необходимо серьезно готовиться. Супруги, решившие готовиться к появлению ребенка еще до зачатия, делают, несомненно, правильный выбор. Разрешить возникшие на этом пути проблемы, составить индивидуальный план подготовки к беременности поможет врач кабинета планирования семьи. Обращение за консультацией для планирования беременности, сознательное участие в исследованиях, выполнение рекомендаций по сохранению и укреплению здоровья, восприятие ответственности за здоровье будущего ребенка будут способствовать качественному ведению беременности, профилактике осложнений и рождению желанного, здорового ребенка.

Планирование беременности рекомендуется начинать не позднее, чем за три месяца до предполагаемого зачатия. Этого времени достаточно, чтобы при выявлении ряда заболеваний провести необходимое лечение. Кроме того, за это время можно сделать прививки от инфекций, заражение которыми в период гестации опасно для жизни и здоровья будущего ребенка. Супруги должны пройти специальные обследования, осмотр врача акушера-гинеколога, при необходимости — других специалистов. При выявлении каких-либо заболеваний провести лечение до полного выздоровления или стойкой ремиссии, чтобы можно было рекомендовать женщине безопасное для плода зачатие и вынашивание беременности. Подготовка к беременности, конечно, потребует от обоих супругов определенных усилий. У них прибавится много новых проблем (вызовы к врачам, проведение обследований, выполнение рекомендаций, изменение образа жизни, отказ от некоторых привычек). Но эти временные трудности будут оправданы появлением на свет здорового малыша. Психологи утверждают, что в семьях, где к беременности готовились, дети развиваются лучше и физически, и эмоционально. Кроме того, заблаговременная подготовка позволяет снизить риск невынашивания и недонашивания беременности и предупредить развитие других осложнений в период беременности и в родах.

Подготовку к беременности желательно начинать с психологической подготовки будущих родителей и, возможно, других членов семьи. Настрой на беременность должен быть у обоих родителей. Ребенка можно и нужно заслужить благоприятной атмосферой в семье, позитивным отношением к своей жизни и возникающим трудностям. Стабильность отношений родителей, пронизанных взаимопониманием, любовью и благодарностью друг к другу является надежным фундаментом здоровья и безопасности младенца.

Когда желание иметь ребенка осмысленно, можно попытаться, чтобы зачатие произошло в определенный нужный промежуток времени, зная, что продолжительность беременности составляет 280 дней. Желательно, чтобы беременность наступила после отпуска (отдыха) или после завершения тяжелой умственной работы. Можно приурочить роды ко времени, свободному от хлопот и переживаний, которые

нужно предвидеть (например, сессия в университете, защита диссертации, командировка, ремонт квартиры, смена жилья и т. д.). Эти рекомендации, конечно, относительны. Разные сроки зачатия имеют свои недостатки и преимущества, супруги должны выбрать их сами, учитывая особенности своей жизни. Запланированное зачатие, возникающее на фоне гармоничных отношений супругов, создает фундамент для развития здорового ребенка.

В период подготовки к беременности идет созревание яйцеклетки и сперматозоидов, полноценная зрелость которых при слиянии образует новый организм с возможностью его дальнейшего развития. Для полноценного развития организма необходимо оградить его от вредных воздействий и тем самым создать благоприятные условия для правильного развития. Родителям необходимо вести здоровый образ жизни, отменить некоторые привычки и отказаться от всего того, что может повредить нормальному развитию ребенка. Им необходимо сознательно отказаться от вредных привычек (курение, наркотики), резко ограничить, вплоть до полного исключения, прием алкоголя. Необходимо максимально уменьшить контакты с бытовой химией, электромагнитными полями и разными высокочастотными излучениями, ограничить время пребывания за компьютером. Если работа родителей может повредить развитию будущего ребенка, следует подумать о перемене профессиональной деятельности за 2—3 мес до и на время беременности.

Как до беременности, так и во время нее необходимо выполнять и тщательно следить за соблюдением здорового образа жизни, одним из видов которого является физическая активность будущих родителей. Обязательны разумные физические нагрузки (плавание, ходьба, езда на велосипеде), упражнения для укрепления мышц брюшного пресса. Очень полезны для здоровья планирующей беременность женщины свежий воздух, ежедневные спокойные прогулки в парке, скверах. Следует избегать стрессовых ситуаций и депрессивных настроений. Сон должен быть здоровым, непрерывным, с открытой форточкой, не менее 8 ч. Необходимо беречься от простуд, особенно весной и осенью, ограничить посещение общественных мест.

Будущим родителям, составляя рацион питания, следует использовать только качественные свежие натуральные продукты. Уже на этапе планирования беременности имеет смысл отказаться от консервированных продуктов, избытка соли и сахара, исключить газированные напитки и различные кондитерские изделия. Следует сократить также употребление крепкого кофе и чая, заменив их свежими соками и травяными чаями, избегать коммерческой еды, которая продается только за счет рекламы и почти не содержит полезных элементов. Желательно, чтобы перед беременностью масса тела женщины соответствовала норме для ее возраста и роста. Правильно сбалансированное питание в полной мере обогащает организм витаминами, необходимыми макро- и микроэлементами, нормализует работу органов пищеварения. На этапе планирования и в I триместре беременности следует избегать любых искусственных пище-

вых добавок и синтетических витаминов, усвояемость которых довольно низка по сравнению с натуральной пищей. Кроме того, бесконтрольный прием витаминов значительно повышает риск аллергии и передозировки, что очень опасно при протекании беременности [35]. Особое место среди витаминов занимает фолиевая кислота, которая используется организмом для процессов кроветворения, деления клеток, полноценного усвоения организмом аминокислот и сахаров. Прием фолиевой кислоты в течение 3 мес до зачатия и в первые 3 мес беременности позволяет снизить риск возникновения пороков развития нервной трубки и других пороков плода. Желательно также отказаться от приема любых лекарственных средств, не предписанных врачом, так как некоторые препараты способны негативно влиять на развитие плода. Если женщина до беременности принимала гормональные противозачаточные средства, то их прием должен быть прекращен, хотя бы в течение 2—3 менструальных цикла до зачатия.

Подготовку к беременности следует начинать с посещения врачей и обследования супругов с целью оценки состояния их здоровья. Традиционным является гинекологический осмотр в сочетании с УЗИ органов малого таза. Обязательно обследование на TORCH-инфекции (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция, герпес); на инфекции, передающиеся половым путем (хламидиоз, уреаплазмоз, микоплазмоз, гонорея, сифилис, ВИЧ-инфекция и др.), а также взятие мазков из влагалища и цервикального канала у женщин, из уретры у мужчин, в которых определяют трихомонады, гарднереллы, стрептококки группы В, грибы и другую инфекцию. При необходимости делают анализ крови на гепатиты В и С, антифосфолипидный синдром. Важно своевременное проведение всех необходимых обследований и их грамотная интерпретация. Наличие той или иной инфекции является противопоказанием к планированию беременности. Своевременная диагностика инфекционного процесса позволяет провести адекватное лечение без вреда для здоровья будущего ребенка. Кроме того, всем женщинам необходимо определить содержание сахара в крови, сделать общий анализ крови и мочи, а также определить группу крови и резус-фактор супругов. Если у женщины был аборт, лучше подождать полгода, прежде чем планировать следующее зачатие.

Среди всех обследований важным и ответственным является генетическое консультирование. В настоящее время каждый мегалополис можно считать экологически неблагоприятной средой, где имеются факторы, способные влиять на здоровье будущего ребенка. В Беларуси 5—6% детей рождаются с врожденной патологией. Для предупреждения неблагоприятных последствий, связанных с внутриутробным развитием плода, существует так называемая перинатальная генетика. Всем мужчинам и женщинам, решившим стать родителями, полезно сделать медико-генетическое тестирование с последующей консультацией генетика для оценки и прогнозирования здоровья потомства. Абсолютно необходимо медико-генетическое консультирование парам, у которых возраст женщины старше

35 лет, мужчины — старше 50 лет; при наличии в семье наследственных заболеваний или рождении ребенка с врожденными пороками развития; при кровнородственном браке; если в анамнезе были самопроизвольные выкидыши, неразвивающаяся беременность, внутриутробная гибель плода, мертворождение; имело место воздействие вредных факторов: радиация, длительный контакт с вредными химическими веществами, употребление препаратов с тератогенным действием. Генетическое обследование рекомендуется также, если воздействие вредных факторов произошло во время зачатия или на ранних сроках беременности; при острой вирусной инфекции до и во время беременности; у беременных, входящих в группу риска по результатам УЗИ или биохимического исследования. Врач-генетик после оценки родословной будущих родителей, анализа кариотипа (качественная и количественная оценка хромосом), изучения заболеваний супругов и воздействия вредных факторов (экологическая обстановка, производственные вредности и прочее) составляет прогноз здоровья будущего ребенка. При необходимости генетик может назначить дополнительные исследования (биохимический анализ крови, консультация эндокринолога, терапевта, невролога). Если предполагается патология развития плода рекомендуется проведение специальных методов пренатальной диагностики, таких как биопсия хориона, кордоцентез, амниоцентез. Проведенное вовремя генетическое обследование позволяет выявить большую часть врожденной и наследственной патологии и предотвратить рождение больного ребенка [34, 36].

Известно, что беременность не только физиологическое состояние, но и большое испытание и серьезная дополнительная нагрузка для женского организма. При беременности все жизненно важные органы работают с удвоенной силой. Их деятельность направлена на поддержание системы «мать—плацента—плод». Наличие каких-либо экстрагенитальных заболеваний может, с одной стороны, отягощать течение беременности, с другой — беременность может спровоцировать обострение хронических заболеваний. Поэтому на этапе планирования беременности необходимо пройти консультацию терапевта, задачей которого является выявление и лечение хронических заболеваний до полного выздоровления или стойкой ремиссии, чтобы можно было рекомендовать зачатие и пролонгирование беременности. По показаниям возможны консультации других специалистов, например, эндокринолога, офтальмолога, отоларинголога, нефролога, необходимость которых определяет врач по планированию беременности. Обследование супруга, которое обычно включает исследование на выявление инфекций, хронического или острого простатита и оценку спермограммы, проводит андролог и уролог.

Не менее важным этапом при планировании беременности является подготовка к зачатию, в котором должны участвовать оба партнера. Самый благоприятный период для зачатия — конец второй — начало третьей недели, считая от первого дня последней менструации. При этом рекомендуется сделать перерыв

в половой жизни на 2—3 дня непосредственно перед зачатием. В это время необходимо избегать ссор, так как любые эмоции и стресс негативно влияют на качество сперматозоидов. Перед половым актом, когда планируется зачатие ребенка, обоим супругам нельзя употреблять алкоголь, посещать баню и принимать горячую ванную. Можно пользоваться только душем. Нежелательно также и спринцевание влагалища, что изменяет его кислотность, влияющую на активность сперматозоидов. Подготовка к зачатию требует от родителей крайней ответственности и определенных усилий, но эти временные трудности будут оправданы появлением здорового малыша.

Таким образом, планирование беременности должно стать неотъемлемой частью жизни любой женщины, любой семьи. Заблаговременная подготовка к зачатию позволяет до минимума снизить риск развития каких-либо осложнений беременности и родов и тем самым повысить вероятность рождения здорового ребенка, что является залогом счастливого материнства. Улучшить состояние репродуктивного здоровья возможно лишь при преодолении низкого материального уровня жизни с повышением качества медико-психологических мероприятий, направленных на решение проблем, препятствующих деторождению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Национальная программа демографической безопасности Республики Беларусь на 2011—2015 годы. Утверждена указом Президента Республики Беларусь № 357 от 11 августа 2011 г.
2. Психология здоровья: Учебник для вузов. / Под ред. Г. С. Никифорова.— СПб., 2006.
3. Отчет по республиканской научно-практической конференции «Беларусь: 10 лет после Каирской Международной конференции по народонаселению и развитию».— Минск, 2003.
4. Жарко В. П. Об итогах работы органов и организаций здравоохранения Республики Беларусь в 2010 г. и основных направлениях деятельности на 2011 г.— 2011.— № 1.— С. 4—18.
5. Репродуктивное здоровье: проблемы и возможности / Фонд ООН в области народонаселения, Минздрав Республики Беларусь.— Минск, 2001.— № 1.— С. 4.
6. Сурмач А. Ю. // Мед. новости.— 2007.— № 3.— С. 40—45.
7. Руководство по охране репродуктивного здоровья / В. И. Кулаков, В. Н. Серов, Л. В. Адамян и др.— М., 2001.
8. Лисицин Ю. П. Общественное здоровье и здравоохранение: Учебник.— М., 2010.
9. Медик В. А., Юрьев В. К. Курс лекций по общественному здоровью и здравоохранению. Ч. 1. Общественное здоровье.— М., 2003.
10. Мороз И. Н., Плахотя Л. П. // Республ. науч.-практич. конф. «Беларусь: 10 лет после Каирской Международной конференции по народонаселению и развитию»: Сб. тез.— Минск, 2003.— С. 145—146.
11. Шахотько Л. П. Модель демографического развития Республики Беларусь.— Минск, 2009.
12. Основные вызовы демографической безопасности: сходства и различия в Молдове и Беларуси // Под ред. Г. А. Палади, Л. П. Шахотько.— Кишинев, 2010.— С. 39—66.
13. Борисов В. А. Демография.— М., 2001.
14. Перепись населения 2009. Население республики Беларусь: его численность и состав. Т. 2.— Минск, 2010.
15. Артеменко М. Демографическая политика Беларуси: обзор итогов реализации и определение приоритетов на 2011—2015 годы // [Электронный ресурс].— Режим доступа: <http://news.open.by/country/39927>.— Дата доступа: 06.11.2010.
16. Малахова И. В., Новик И. И., Калинина Т. В., Богданович Н. С. // *Вопр. организации и информатизации здравоохранения*.— 2009.— № 1.— С. 18—22.
17. Щавелева М. В., Глинская Т. Н., Гулицкая Н. И. Анализ динамики медико-демографической ситуации в Республике Беларусь по результатам трех переписей населения (1989—2009 гг.).— 2011.— № 2.— С. 26—30.
18. Вильчук К. У., Харкевич О. Н., Савицкая В. М. Досрочное прерывание беременности по жизненным показаниям со стороны матери и плода при тяжелой акушерской патологии: Инструкция по применению.— Минск, 2005.
19. Можейко Л. Ф. Становление репродуктивной системы у девочек-подростков и коррекция ее нарушений.— Минск, 2002.
20. Жукова Н. П. // *Мед. новости*.— 2002.— № 7.— С. 71—73.
21. Завва В. В. Репродуктивное здоровье современной молодежи // [Электронный ресурс].— Режим доступа: <http://www.tata.ru>.
22. Юрьев В. К. // *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины*.— 2000.— № 4.— С. 3—5.
23. Здоровье матери и ребенка: Информационно-аналитич. материалы // Под ред. Л. И. Матуш, Г. А. Шишко.— Минск, 2002.
24. Антипова С. И., Савина И. И. // *Вопр. организации и информатизации здравоохранения*.— 2010.— № 2.— С. 26—40.
25. Уварова Е. В., Тарусин Д. И. Пособие по обследованию состояния репродуктивной системы детей и подростков.— М., 2009.
26. Здравоохранение в Республике Беларусь: Официальный статистич. сборник за 2010 г.— Минск, 2011.
27. Гуркин Ю. А. Гинекология подростков: Руководство для врачей.— СПб., 2000.
28. Капитонова Э. К. // *Мед. новости*.— 2000.— № 8.— С. 41—43.
29. Можейко Л. Ф. // *Мед. новости*.— 2002.— № 2.— С. 39—44.
30. Жукова Н. П., Шматкова О. Н. // *Охрана материнства и детства*.— 2006.— № 2(8).— С. 21—26.
31. Девятых С. Ю. // *Охрана материнства и детства*.— 2010.— № 2(16).— С. 32—37.
32. Добряков И. В. Перинатальная психология.— СПб., 2010.
33. Брутман В. И., Филиппова Г. Г., Хамитова И. Ю. Мать, ребенок, семья. Современные проблемы // Сб. материалов конференции.— СПб., 2000.— С. 28.
34. Генетика в клинической медицине // Под ред. А. А. Новик, Т. А. Камилова, В. Н. Цыган.— СПб., 2001.
35. Радецкая Л. Е. // *Здравоохранение*.— 2011.— № 8.— С. 23—28.
36. Калинина Т. В., Малахова И. В. Медико-социальная характеристика факторов, влияющих на формирование общественного здоровья.— 2010.— № 2.— С. 4—9.
37. Северный А. А. // *Российское образование: Официальные вестн.*— 2001.— № 1—2.— С. 91—93.

Поступила 10.04.12.

REPRODUCTIVE HEALTH SPECIFIC FEATURES NOWADAYS

G. I. Gerasimovich

The reproductive health function under conditions of the demographic situation formed in the Republic of Belarus when the extragenital and genital pathology occurrence among the fertile age women is high is being discussed. The health state of adolescent girls being the labor reserve and its role in formation of reproductive function of fertile women is being evaluated. It has been shown that the reproductive health can be maintained and improved through labor planning the purpose being giving birth to healthy generation.

Key words: reproductive health, demography, birth rate, disease incidence, pregnancy.

Адрес для корреспонденции:

Герасимович Георгий Игнатьевич.
Белорусский государственный медицинский университет.
220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83; сл. тел. (8-017) 292-11-01.

И. А. ГОНЧАР

ПРОГРЕССИРУЮЩИЙ ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ

РНПЦ неврологии и нейрохирургии
Минздрава Республики Беларусь

Нарастание неврологического дефицита в острый период ишемического инсульта является распространенным осложнением инсульта и ассоциировано с повышением летальности и ухудшением клинического исхода заболевания. Прогрессирование ишемического инсульта может быть следствием недостаточности коллатерального кровоснабжения, геморрагической трансформации очага инфаркта, увеличения внутриартериального тромба, повторного инсульта с вовлечением первоначального или нового сосудистого бассейна, отека мозга с повышением внутричерепного давления, нарушения вегетативной регуляции сердечного ритма, судорожных припадков. Учет ведущих патогенетических механизмов прогрессивного течения инфаркта мозга позволяет стратифицировать больных из группы риска для интенсивного наблюдения и лечения.

Ключевые слова: инфаркт головного мозга, ишемический инсульт, патогенетические механизмы, прогрессирующий инсульт.

Прогрессирование неврологических симптомов в острый период ишемического инсульта (ИИ) является распространенным осложнением инсульта и ассоциировано с повышением летальности и ухудшением клинического исхода заболевания [1—5]. Исторически для названия «инсульт с ухудшением» были предложены различные термины: «прогрессирующий инсульт», «инсульт в развитии», «инсульт в прогрессии», «прогрессирующий инсульт», «инсульт в ходу» [6—11]. Общим для этих понятий является следующее: диагноз прогрессирующего инсульта устанавливается тогда, когда нарастание очагового неврологического дефицита и снижение уровня сознания после поступления в стационар зафиксировано в медицинской документации квалифицированными специалистами, имеющими подготовку по оценке состояния больного с острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК) [12].

Оптимальным для применения в практической и научной работе является определение прогрессирующего инсульта как ОНМК, при котором нарастание очагового неврологического дефицита и/или снижение уровня сознания в течение первых 7 сут заболевания соответствуют 2 и более баллам по шкале инсульта Национального института здоровья (NIHSS) [7, 13, 14].

В случае прогрессивного клинического течения инфаркта головного мозга (ИГМ) существует ряд сложных патофизиологических механизмов, приводящих к утяжелению клинической картины инсульта:

- ретромбоз стенозированной артерии и/или внутрисосудистое распространение тромба;
- повторная эмболическая окклюзия заинтересованной или другой церебральной артерии с развитием повторного ИГМ;

- отек головного мозга;
- геморрагическая трансформация зоны инфаркта;
- недостаточность коллатералей;
- гипоперфузия мозга в результате гиповолемии, снижения артериального давления и/или сердечного выброса;
- инфекционные заболевания;
- вегетативный дисбаланс;
- метаболические нарушения;
- эпилептические припадки.

Истинную частоту встречаемости причин «инсульта в развитии» назвать невозможно, так как на практике, по нашим многолетним наблюдениям, у одного и того же пациента встречается не один, а комплекс взаимосвязанных и взаимоусугубляющих друг друга предикторов ухудшения состояния.

Цель настоящей публикации — ознакомить врачей с основными патогенетическими механизмами прогрессирования ИИ.

Недостаточность коллатерального кровообращения

Закупорка крупной церебральной артерии, к которой относят внутреннюю сонную (ВСА), среднюю мозговую (СМА), переднюю мозговую, позвоночную и основную артерии, является одним из наиболее важных предикторов нарастания неврологического дефицита [5]. В случае недостаточного развития коллатеральной сосудистой сети окклюзия крупной мозговой артерии приводит к критическому падению скорости кровотока дистальнее стеноза в пораженном сосудистом бассейне [15]. Транзиторная ишемическая атака представляет собой антипод прогрессирующего ИИ [16], так как при ней неврологическая симптоматика исчезает при восстановлении кровообращения в пораженной артерии, а при прогрессивном ИГМ, наоборот, нарастает вплоть до гибели мозга. Улучшение циркуляции крови в зоне острой церебральной ишемии может происходить либо вследствие растворения тромба, закупорившего артерию, либо при активном включении в процесс кровоснабжения мозговых коллатералей. Расширение зоны инфаркта мозга развивается при критическом снижении мозговой перфузии на фоне недостаточного развития или функционирования коллатеральных путей церебрального кровотока [17, 18]. Особенно драматично недостаточность коллатерального кровообращения проявляется при поражении микроциркуляторного русла мозга — микроангиопатии, обусловленной сахарным диабетом или гипертензивной ангиопатией [19, 20].

Снижение интрацеребрального кровотока вызывает локальную гипоксию мозга, активацию реакцией перекисного окисления липидов, нарушение проницаемости гематоэнцефалического барьера и усугубление повреждения нейронов под действием свободных радикалов [19, 21, 22]. Недостаточное функционирование коллатералей приводит к снижению энергетического метаболизма в зоне пенумбры и, как следствие, прогрессированию очага ишемического некроза нейронов [23]. Изменение синаптической передачи при сохранности цитоплазматических и ядерных

мембран является потенциально обратимым нарушением при условии восстановления адекватного кровоснабжения нейронов [24]. Оценить степень реканализации просвета закупоренной артерии можно методами транскраниальной доплерографии (ТКД), дуплекснографии, магнитно-резонансной ангиографии (МРА), компьютерно-томографической ангиографии (КТА) или внутриартериальной дигитальной субтракционной ангиографии [25—30].

Увеличение внутриартериального тромба

Ранее нарастание зоны инфаркта мозга объясняли исключительно увеличением размеров тромба внутри заинтересованной артерии [31]. Исследования, проведенные в последние десятилетия с использованием МРА, подтвердили окклюзию церебральной артерии и неполноценное функционирование коллатералей как основные причины «инсульта в ходу» [24, 32—34]. Гипоперфузия дистальнее места критического падения мозгового кровотока способствует замедленному растворению тромба и вносит свой синергичный вклад в нарастание мозговой ишемии [15].

Исследователями предпринимались попытки выполнения повторных церебральных ангиографий у больных с прогрессирующим неврологическим дефицитом [35]. На первоначальных ангиограммах у 15 пациентов с ИГМ были визуализированы: у 3 — окклюзия ВСА, у 2 — стеноз ВСА, у 5 — окклюзия ствола СМА, у 2 — окклюзия ветвей СМА, у 3 — неизмененные церебральные артерии. При повторном контрастировании артериального русла мозга, выполненном после ухудшения состояния больных, диагностированы окклюзии других крупных церебральных сосудов, нарастание размеров внутрипросветного тромба, окклюзии коллатералей, а также реканализация ранее закупоренных артерий. Это свидетельствует о многообразии патофизиологических механизмов нарушения мозгового кровотока при прогрессировании ИИ и необходимости полного всестороннего обследования для исключения других потенциальных причин ухудшения состояния больных.

Повторный ИИ

Риск повторного ИИ наиболее высок в течение первой недели после ОНМК, особенно у пациентов с макроангиопатией [10, 36]. Среди 256 больных с прогрессирующим ИГМ повторный ИИ был причиной нарастания неврологической симптоматики в 11,3% случаев, отек мозга с повышением внутричерепного давления — в 27,3%, вторичное паренхиматозное кровоизлияние — в 10,5% [37]. Эмболия из атеросклеротической сосудистой бляшки или из полости сердца может вызвать повторный инсульт в зоне первоначального ишемического ОНМК или в новом сосудистом бассейне. Диагностика микроэмболии с помощью ТКД эффективна для стратификации пациентов с повышенным риском ухудшения, обусловленного повторным ишемическим поражением мозга [38—40].

При мониторинговании церебрального кровотока у 73 пациентов с инфарктом мозга в бассейне СМА в течение 10±8 сут с помощью доплерографии L. Valton

и соавт. установили, что при наличии микроэмболических сигналов риск повторного ИГМ в этот период составляет 4,3 случая на 100 пациенто-дней, при отсутствии микроэмболических сигналов — лишь 0,5 [41]. R. R. Moustafa и соавт. показали возможности ТКД в выявлении микроэмболов, исходящих с поверхности воспаленной атеросклеротической бляшки, стенозирующей просвет ипсилатеральной общей сонной артерии в области ее бифуркации на 50—99% [42].

Отек мозга

Повышение внутричерепного давления обуславливает 19% от всех случаев ухудшения при ИИ [37]. При инсультах передней циркуляции мозга риск развития отека не очень высок и составляет около 10—20% [5]. В случае закупорки основного ствола СМА отек при инфаркте мозга развивается на 3—4-е сутки. Понятие «злокачественный» ИИ применяют в отношении обширного инфаркта в бассейне СМА, вызывающего отек и дислокацию мозга в первые 24 ч [43, 44].

Клиническими признаками повреждения жизненно важных центров мозга вследствие отека и вклинения являются снижение уровня сознания, двусторонний птоз, появление симптоматики со стороны непораженного полушария. В случае развития злокачественного ИГМ сопровождающий его отек мозга имеет цитотоксический характер и не поддается введению осмотических диуретиков, вынуждая врачей идти на крайние меры в виде гемикраниоэктомии [43]. Изучение обширных инфарктов в бассейне СМА показало, что инициальная оценка по шкале NIHSS более 20 баллов, тотальный ИГМ и объем очага поражения более 145 см³, по данным диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии (МРТ), ассоциированы с развитием фатального отека мозга [45].

Геморрагическая трансформация инфаркта мозга

Геморрагическая трансформация зоны инфаркта является нередким осложнением и может проявляться как бессимптомно протекающими петехиальными гемorragиями, так и обширными вторичными гематомами со сдавлением мозговых структур [46]. На фоне рутинной терапии ИИ частота симптомной геморрагической трансформации ИГМ составляет 0,6%, в случае применения более агрессивных методов лечения, таких как внутривенное введение фибринолитиков, механическая экстракция тромба или внутриартериальный тромболитизис — 3—20% [47—53]. Согласно A. S. Kim и соавт., реканализация закупоренной артерии достигается в результате эндоваскулярной тромбэктомии в 72,9% интервенционных вмешательств, в то время как при проведении внутривенного тромболитизиса с альтеплазой — лишь в 46,2% [54]. При использовании интервенционного вмешательства симптоматическое внутримозговое кровоизлияние (при котором оценка клинического состояния пациента по шкале NIHSS снижается на 4 и более баллов) осложняет 8,6% от всех успешных реканализаций, а также развивается у 15,4% пациентов без восста-

новления проходимости церебральной артерии. Для внутривенного введения рекомбинантного тканевого активатора плазминогена аналогичные показатели составляют 3,6% и 13,3% соответственно.

По данным клиники Mayo (США), среди 3864 пациентов с ИГМ, подвергнутых эндоваскулярной тромбэктомии в период с 2006 по 2008 г., у 15,5% развилось симптоматическое внутримозговое кровоизлияние. При дополнении процедуры экстракции эмбола введением фибринолитика частота интракраниально-геморрагического кровотечения была еще выше — 20% [55]. В исследовании A. Rouchaud и соавт., основанном на анализе данных 47 пациентов с острым ИИ, частота симптоматического кровоизлияния, осложнившего механическую эмболэктомию, составила 8%, частота реканализаций — 79%; лучшие результаты получены у пациентов с изолированной окклюзией СМА [56].

Реокклюзия артерии

Частота диагностирования повторной закупорки церебральной артерии, ответственной за появление очага ИГМ, как причины раннего нарастания неврологических симптомов, существенно увеличилась с появлением интервенционных технологий реканализации [15, 57—59]. A. V. Alexandrov и соавт. сообщили о результатах внутривенного введения рекомбинантного тканевого активатора плазминогена у 60 больных с ИГМ, вызванным окклюзией СМА, под непрерывным ТКД-мониторингом церебрального кровотока [60]. Полное восстановление проходимости артерии в результате проведения тромболитика было достигнуто у 18 (30%) больных, частичное — у 29 (48%), у 13 (22%) пролеченных пациентов СМА осталась закупоренной. Частота реокклюзий СМА составила 34% (16 из 47 пациентов). По данным доплерографии, у 25% больных, первоначально откликнувшихся на введение тромболитика, реокклюзия развилась еще до болюсного введения альтеплазы, у 19 — через 30 мин после введения препарата, у 19% — к концу инфузии, у 37% пациентов — между 60 и 120 мин тромболитика. Ухудшение клинического состояния более 4 баллов по шкале NIHSS констатировано у 50% пациентов с повторной закупоркой СМА по сравнению с 10% больных с успешной реканализацией ($P < 0,0001$).

По данным M. Rubiera и соавт., независимыми предикторами повторной окклюзии СМА являются тяжесть инициального неврологического дефицита, частичная реканализация СМА после внутривенного введения альтеплазы и выраженное атеросклеротическое поражение ипсилатеральной сонной артерии [61]. При использовании транскраниальной доплерографии можно диагностировать повторную закупорку церебральной артерии и помочь в отборе пациентов, подлежащих так называемой бридж-терапии (bridging therapy) — сочетанному применению внутривенного и внутриартериального тромболитика с механической эмболэктомией [25, 62—64]. В медицинских центрах, не располагающих возможностью мониторинга церебрального кровотока на ультразвуковых аппаратах экстра-класса, в качестве вспо-

могательных технологий во время проведения интервенционных процедур при ИГМ могут применяться внутрисосудистое ультразвуковое исследование, электроэнцефалография (ЭЭГ) и церебральная оксиметрия [65].

Вегетативный дисбаланс

В последние годы при изучении проблемы прогрессирующего ИИ все большее внимание уделяют нарушению вегетативного контроля сердца и сосудов [3, 14]. В острый период ИИ происходит выраженный сдвиг вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы в сторону повышения активности симпатической модуляции [2]. Симпатическая гиперактивность сопровождается вазоконстрикцией, повышением плазменного уровня ангиотензина-2, уменьшением числа артериол в скелетных мышцах, увеличением артериального давления, гипергликемией [66]. Это, в свою очередь, приводит к развитию и прогрессированию системных нарушений вегетативной регуляции сердца и сосудов, усугублению клинического состояния пациентов с ИГМ.

Регистрация 5-минутных записей ЭКГ с анализом вариабельности сердечного ритма (ВСР) у 79 больных с атеротромботическим ИГМ позволила определить кардиоинтервалометрические паттерны, патогномичные для неблагоприятного клинического течения инсульта, которые характеризуются выраженным угнетением функциональных резервов вегетативной регуляции ритма сердца [67]. При сравнении данных ВСР у пациентов с прогрессирующим и регрессирующим течением инсульта получена достоверная разница по ряду временных и спектральных показателей. Это проявлялось снижением максимальной длительности кардиоинтервалов ($P = 0,011$ по сравнению с регрессирующим ИГМ), медианы длительности кардиоинтервалов ($P = 0,049$), относительной мощности спектра ВСР в области высоких частот ($P = 0,013$), повышением относительной мощности спектра ВСР в области очень низких частот ($P = 0,0006$), индекса централизации ($P = 0,013$), симпатовагального баланса ($P = 0,022$) и частоты сердечных сокращений ($P = 0,048$).

В то же время острый период лакунарного ИИ в правом каротидном бассейне артерий с умеренным нарушением очаговых неврологических функций сопровождается централизацией вегетативного обеспечения сердечного ритма, вызванной повышением активности надсегментарных отделов вегетативной нервной системы, относительной симпатикотонией и угнетением парасимпатической автономной модуляции [68].

Выполнено проспективное клинико-кардиоинтервалометрическое исследование у 218 пациентов с острым ИИ: 50 — с прогрессивным течением ИГМ и 168 — без нарастания неврологического дефицита [3]. Для определения предикторов неблагоприятного развития ИИ в модель пошагового дискриминантного анализа были включены 43 клинических, демографических, электрокардиографических, лабораторных параметра. В заключительную прогностическую модель, позволяющую правильно классифицировать вариант клинического течения инсульта в 83% случа-

ев, вошли 5 независимых предикторов прогрессирующего ИГМ: пол, мощность спектра ВСР в области низких частот, максимальное значение длительности кардиоинтервалов, время от дебюта инсульта до госпитализации и характер развития инициальных неврологических симптомов. Результаты исследования позволили объективизировать значение параметров вегетативной регуляции сердечного ритма и клинических данных в прогнозе клинического течения острого некардиоэмболического ИГМ.

Судорожные припадки

Частота эпилептических приступов в острый период инсульта составляет от 2 до 33% [69], при этом в 5% случаев судороги могут быть причиной прогрессирования ИИ [70]. В исследовании С. Denier и соавт., выполненном у 321 больного с острым ИИ, частота ранних эпилептических припадков, возникающих в течение первых 2 нед ОНМК, составила 4,3%, при этом корковые инфаркты водораздела, расположенные на границе соседних сосудистых бассейнов, были достоверно связаны с высокой частотой постинсультной эпилепсии по сравнению с корковыми территориальными ИГМ (23,1% и 5,3% соответственно; $P=0,007$) [71].

Обычно судорожные пароксизмы, развивающиеся у пациентов с обширными ИГМ корковой локализации, вызывают временное усугубление неврологической симптоматики (так называемые параличи Тодда) [72]. Однако продолжительные генерализованные приступы, а также длительно не купирующиеся парциальные припадки являются причиной стойкого неврологического ухудшения [73]. Бессудорожные эпилептические приступы также могут вызывать ухудшение состояния больных, при этом следует учитывать, что их сложно распознать клинически — необходимо проведение ЭЭГ-обследования [74]. Оснащение палат интенсивной терапии высокотехнологичным оборудованием для постоянного ЭЭГ-мониторинга дает возможность своевременно диагностировать ухудшение состояния пациентов, обусловленное нарастающей ИГМ, а также выявлять неотложные состояния и системные нарушения, требующие безотлагательно вмешательства, такие как судорожный синдром, повышение внутричерепного давления, кровотечение, гипоксия, гипотензия, ацидоз и другие [75].

Ухудшение состояния больных через 3—4 сут обычно обусловлено системными причинами, такими как воспалительные заболевания, электролитные нарушения, осложнения со стороны желудочно-кишечного тракта, пролежни. Анализируя опыт лечения 11 757 пациентов с ИГМ, госпитализированных с 2003 по 2008 г. в отделение Stroke Unit, датские исследователи констатировали, что, несмотря на раннее проведение нейровизуализации, своевременное назначение антиагрегантных или антикоагулянтных препаратов, наблюдение терапевта, специалиста по питанию и реабилитолога, 25,3% больных в острый период инсульта имели как минимум одно осложнение, обусловленное соматическим заболеванием. Наиболее часто встречалась урологическая инфекция — 15,5%, реже пневмония — 8,8%, нарушения мотори-

ки желудочно-кишечного тракта — 7,0% [76]. По данным X. Tong и соавт., частота таких осложнений, как острый инфаркт миокарда, пневмония, тромбоз глубоких вен, тромбоэмболия легочной артерии, инфекция мочевыводительных путей составила 1,6%, 2,9%, 0,8%, 0,3% и 10,1% соответственно [77]. Оптимальными путями профилактики осложнений в острый период ИИ являются индивидуализация ухода за больными и ранняя мобилизация [78].

Таким образом, прогрессирующее клиническое течение ИИ, связанное с нарастанием очагового неврологического дефицита и снижением уровня сознания, развивается в острый период ИГМ у 16—43% больных, повышая вероятность тяжелой инвалидизации и летального исхода. Прогрессирование ИИ может быть следствием недостаточности коллатерального кровоснабжения, геморрагической трансформации очага инфаркта, увеличения внутриартериального тромба, повторного инсульта с вовлечением первоначального или нового сосудистого бассейна, отека мозга с повышением внутричерепного давления, нарушения вегетативной регуляции сердечного ритма, судорожных припадков. Учет ведущих патогенетических механизмов прогрессивного течения инфаркта мозга позволяет стратифицировать больных из группы риска для интенсивного наблюдения и лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виберс Д., Фейгин В., Браун Р. Инсульт. Клиническое руководство.— М.—СПб., 2005.
2. Гончар И. А. // Мед. панорама.— 2010.— № 8.— С. 55—60.
3. Гончар И. А. // Мед. новости.— 2011.— № 1.— С. 69—76.
4. Adams H. P., del Zoppo G., Alberts M. J., et al. // Stroke.— 2007.— Vol. 38.— P. 1655—1711.
5. Alexandrov A. V., Felberg R. A., Demchuk A. M., et al. // Stroke.— 2000.— Vol. 31.— P. 915—919.
6. Barber M., Wright F., Stott D. J., Langhorne P. // Gerontology.— 2004.— Vol. 50.— P. 102—109.
7. Davalos A., Toni D., Iweins F., et al. // Stroke.— 1999.— Vol. 30.— P. 2631—2636.
8. Vila N., Castillo J., Davalos A., Chamorro A. // Stroke.— 2000.— Vol. 31.— P. 2325—2329.
9. Birschel P., Ellul J., Barer D. // Cerebrovasc. Dis.— 2004.— Vol. 17.— P. 242—252.
10. Rothwell P. M., Giles M. F., Chandratheva A., et al. // Lancet.— 2007.— Vol. 370.— P. 1432—1442.
11. Kwan J., Hand P. // QJM.— 2006.— Vol. 99.— P. 625—633.
12. Yamamoto H., Bogousslavsky J., van Melle G. // Arch. Neurol.— 1998.— Vol. 55.— P. 481—486.
13. Белова А.Н. Шкалы, тесты и опросники в неврологии и нейрохирургии.— М., 2004.
14. Гончар И. А. // Неврология и нейрохирургия в Беларуси.— 2011.— № 1.— С. 152—158.
15. Caplan L. R. // Stroke.— 2002.— Vol. 33.— P. 1443—1445.
16. Edwards J. D., Meehan S. K., Levy A. R., et al. // Stroke.— 2011.— Vol. 42.— P. 728—733.
17. Очерки ангионеврологии / Под ред. З. А. Суслиной.— М., 2005.
18. Rost N. S., Fitzpatrick K., Biffi A., et al. // Stroke.— 2010.— Vol. 41.— P. 2807—2811.
19. Pulsinelli W. // Lancet.— 1992.— Vol. 339.— P. 533—536.
20. MacDougall N. J., Muir K. W. // J. Cereb. Blood Flow Metab.— 2011.— Vol. 31, № 3.— P. 807—818.
21. Суслина З. А., Румянцова С. А., Танащян М. М. и др. // Неврология и нейрохирургия в Беларуси.— 2011.— № 2.— С. 55—64.

22. Гусев Е. И., Скворцова В. И. Ишемия головного мозга.— М., 2001.
23. Tan I. Y. L., Demchuk A. M., Hopyan J., et al. // *Am. J. Neuroradiol.*— 2009.— Vol. 30.— P. 525—531.
24. Ali L. K., Saver J. L. // *Rev. Neurol. Dis.*— 2007.— Vol. 4.— P. 85—91.
25. Alexandrov A. V., Nguyen H. T., Rubiera M., et al. // *Stroke.*— 2009.— Vol. 40.— P. 2738—2742.
26. Kidwell C. S., Villablanca J. P., Saver J. L. // *Curr. Atheroscler. Rep.*— 2000.— Vol. 2, № 2.— P. 126—135.
27. Kunst M. M., Schaefer P. W. // *Radiol. Clin. N. Am.* 2011.— Vol. 49, № 1.— P. 1—26.
28. Burgess R. E., Kidwell C. S. // *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*— 2011.— Vol. 11, № 1.— P. 28—34.
29. Akopov S., Whitman G. T. // *Stroke.*— 2002.— Vol. 33.— P. 1274—1279.
30. Macintosh B. J., Sideso E., Donahue M. J., et al. // *Stroke.*— 2011.— Vol. 42.— P. 979—984.
31. Thanvi B., Treadwell S., Robinson T. // *Postgrad. Med. J.*— 2008.— Vol. 84.— P. 412—417.
32. Schellinger P. D., Fiebich J. B., Jansen O., et al. // *Ann. Neurol.*— 2001.— Vol. 49.— P. 460—469.
33. Rajajee V., Kidwell C., Starkman S., et al. // *Neurology.*— 2006.— Vol. 67.— P. 980—984.
34. Selim M. H., Molina C. A. // *Stroke.*— 2010.— Vol. 41.— P. 3007—3008.
35. Irino T., Watanabe M., Nishide M., et al. // *Stroke.*— 1983.— Vol. 14.— P. 363—368.
36. Kang D. W., Latour L. L., Chalela J. A., et al. // *Ann. Neurol.*— 2003.— Vol. 54.— P. 66—74.
37. Weimar C., Mieck T., Buchthal J., et al. // *Arch. Neurol.*— 2005.— Vol. 62.— P. 393—397.
38. King A., Markus H. S. // *Stroke.*— 2009.— Vol. 40.— P. 3711—3717.
39. Iguchi Y., Kimura K., Kobayashi K., et al. // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.*— 2008.— Vol. 79.— P. 253—259.
40. Dittrich R., Ritter M. A., Kaps M., et al. // *Stroke.*— 2006.— Vol. 37.— P. 1065—1069.
41. Valton L., Larrue V., le Traon A. P., et al. // *Stroke.*— 1998.— Vol. 29.— P. 2125—2128.
42. Moustafa R. R., Izquierdo-Garcia D., Fryer T. D., et al. // *Circ. Cardiovasc. Imaging.*— 2010.— Vol. 3.— P. 536—541.
43. Huttner H. B., Juttler E., Schwab S. // *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*— 2008.— Vol. 8.— P. 526—533.
44. Harscher S., Reichart R., Terborg C., et al. // *Acta Neurochir.*— 2005.— Vol. 148.— P. 31—37.
45. Oppenheim C., Samson Y., Manai R., et al. // *Stroke.*— 2000.— Vol. 31.— P. 2175—2181.
46. Grunwald I. Q., Wakhloo A. K., Walter S., et al. // *Am. J. Neuroradiol.*— 2011.— Vol. 32.— P. 238—243.
47. Smith W. S., Sung G., Starkman S., et al. // *Stroke.*— 2005.— Vol. 36.— P. 1432—1438.
48. Yoo A. J., Verduzco L. A., Schaefer P. W., et al. // *Stroke.*— 2009.— Vol. 40.— P. 2046—2054.
49. White C. J., Abou-Chebl A., Cates C. U., et al. // *J. Am. Coll. Cardiol.*— 2011.— Vol. 58.— P. 101—116.
50. Costalat V., Machi P., Lobotesis K., et al. // *Stroke.*— 2011.— Vol. 42.— P. 1929—1935.
51. Meyers P. M., Schumacher H. C., Connolly E. S., et al. // *Circulation.*— 2011.— Vol. 123.— P. 2591—2601.
52. Baker W. L., Colby J. A., Tongbram V., et al. // *Ann. Inter. Med.*— 2011.— Vol. 154.— P. 243—252.
53. Mikulik R., Goldemund D., Reif M., et al. // *Stroke.*— 2009.— Vol. 40.— P. 868—872.
54. Kim A. S., Nguyen-Huynh M. N., Johnston S. C., et al. // *Ibid.*— P. 2013—2018.
55. Brinjikji W., Rabinstein A. A., Kallmes D. F., Cloft H. J. // *Ibid.*— P. 1648—1652.
56. Rouchaud A., Mazighi M., Labreuche J., et al. // *Ibid.*— P. 1289—1294.
57. Bang O. Y., Liebeskind D. S., Saver J. L., et al. // *J. Neuro. Neurosurg. Psychiatry.*— 2011.— Vol. 82.— P. 27—32.
58. Mazighi M., Serfaty J. M., Labreuche J., et al. // *Lancet Neurol.*— 2009.— Vol. 9, № 8.— P. 802—809.
59. Khalessi A. A., Natarajan S. K., Orion D., et al. // *J. Am. Coll. Cardiol. Intv.*— 2011.— Vol. 4.— P. 261—269.
60. Alexandrov A. V., Grotta J. C. // *Neurology.*— 2002.— Vol. 59.— P. 862—867.
61. Rubiera M., Alvarez-Sabhn J., Ribo M., et al. // *Stroke.*— 2005.— Vol. 36.— P. 1452—1456.
62. Mazighi M., Labreuche J. // *Stroke.*— 2011.— Vol. 42.— P. 880—881.
63. Ribo M., Rubiera M., Pagola J., et al. // *Am. J. Neuroradiol.* 2010.— Vol. 31.— P. 1899—1902.
64. Jumaa M. A., Zhang F., Ruiz-Ares G., et al. // *Stroke.*— 2010.— Vol. 41.— P. 1180—1184.
65. Babikian V. L., Nguyen T. N. // *Ibid.*— P. 577—578.
66. Matveev M., Tsonev S. N., Prokopova R., Donova T. // *Comput. Cardiol.*— 2010.— Vol. 23.— P. 1047—1050.
67. Гончар И. А. // *Дальневосточный мед. журнал.*— 2011.— № 2.— С. 12—15.
68. Гончар И. А., Лухачев С. А., Фролов А. В. и др. // *Журн. неврологии и психиатрии.*— 2011.— № 8.— С. 15—20.
69. Camilo O., Goldstein L. B. // *Stroke.*— 2004.— Vol. 35.— P. 1769—1775.
70. Johnston K. C., Li J. Y., Lyden P. D., et al. // *Stroke.*— 1998.— Vol. 29.— P. 447—453.
71. Denier C., Masnou P., Mapoure Y., et al. // *Arch. Neurol.*— 2010.— Vol. 67, № 10.— P. 1219—1223.
72. Lamy C., Domingo V., Semah F., et al. // *Neurology.*— 2003.— Vol. 60, № 3.— P. 400—404.
73. Neligan A., Shorvon S. D. // *Arch. Neurol.*— 2010.— Vol. 67.— P. 931—940.
74. Vespa P. M., O'Phelan K., Shah M., et al. // *Neurology.*— 2003.— Vol. 60.— P. 1441—1446.
75. Friedman D., Claassen J., Hirsch L. J. // *Anesth. Analg.*— 2009.— Vol. 109.— P. 506—523.
76. Ingeman A., Andersen G., Hundborg H. H., et al. // *Stroke.*— 2011.— Vol. 42.— P. 167—172.
77. Tong X., Kuklina E. V., Gillespie C., George M. G. // *Stroke.*— 2010.— Vol. 41.— P. 980—986.
78. Hong K. S., Saver J. L., Kang D. W., et al. // *Ibid.*— P. 1758—1765.

Поступила 17.04.12.

PROGRESSIVE ISCHEMIC STROKE: PATHOGENETIC MECHANISMS OF DEVELOPMENT

I. A. Gontchar

Neurological deficiency aggravation during the ischemic stroke acute period is a wide spread complication of stroke and is associated with the lethality rate increase and the disease clinical outcome worsening. Progressive ischemic stroke can be a consequence of the collateral blood supply failure, the infarction focus hemorrhagic transformation, the intra-arterial thrombus enlargement, a second stroke accompanied by involvement of the primary vascular basin or of a new one, cerebral edema the intracranial pressure increasing, disorders of the heart rhythm vegetative regulation, seizures attacks. Consideration of the leading pathogenetic mechanisms of the cerebral infarction progradient course makes possible patients stratification from the group of risk for their intensive observation and treatment.

Key words: cerebral infarction, ischemic stroke, pathogenetic mechanisms, progressive stroke.

Адрес для корреспонденции:

Гончар Ирина Анатольевна.
Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии.
220114, г. Минск, ул. Ф. Скорины, 24-219; сп. тел. (8-17) 267-23-40.

Е. Ф. КАЧАНКО, И. А. КАРПОВ

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКЕ ПНЕВМОКОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

Республиканский клинический медицинский центр
Управления делами Президента Республики Беларусь,
Белорусский государственный медицинский университет

Представлены данные масштабных исследований, проведенных в США, Японии, Европе и Российской Федерации, по заболеваемости инвазивными формами пневмококковой инфекции детей первых 5 лет жизни и лиц старше 65 лет до и после иммунизации конъюгированной пневмококковой вакциной. Полученные результаты убедительно показывают, что специфическая профилактика является наиболее доступным и экономичным способом, позволяющим снизить заболеваемость, предупредить развитие генерализованных форм пневмококковой инфекции, сократить показатели инвалидности и смертности среди детей раннего возраста и взрослых.

Ключевые слова: пневмококковая инфекция, иммунизация, конъюгированные пневмококковые вакцины.

В настоящее время пневмококковые инфекции остаются серьезной проблемой как в развитых, так и в развивающихся странах. *Streptococcus pneumoniae* является одним из основных возбудителей внебольничной пневмонии, бактериемии, менингита, среднего отита, синусита [1—6]. Несмотря на наличие высокоэффективных антимикробных препаратов, заболеваемость и летальность от пневмококковых инфекций сохраняется на высоком уровне. По данным ВОЗ, *S. pneumoniae* ежегодно приводит к смерти 1,6 млн человек, в том числе от 0,7 до 1 млн детей, что составляет 40% смертности детей первых 5 лет жизни [11, 18]. Причем наибольшее число инвазивных форм пневмококковой инфекции приходится на возрастную группу до 5 лет [41].

В Европейском регионе ВОЗ в 2010 г. пневмония оставалась лидирующей причиной летальности у детей первых 5 лет жизни [18, 19]. В развитых странах случаи смерти от заболеваний, вызываемых пневмококком, встречаются, в первую очередь, у пациентов с иммунодефицитом, дисфункцией селезенки или различными вариантами органной недостаточности, показатель летальности от инвазивных форм пневмококковой инфекции в данной группе достигает 50% [20, 21]. Ежегодно в США регистрируется 125 000—500 000 случаев пневмоний, 50 000 бактериемий, 3000 менингитов, 7 млн острых средних отитов [8, 9]. Экономические затраты на терапию острого среднего отита (ОСО) в США достигают 3—5 млрд долларов США, пневмококковых менингитов — 9 млн, бактериемий — 35 млн, пневмоний — 113 млн [10]. В США до введения вакцинации детей от пневмококковой инфекции ежегодно отмечали 1250 случаев госпитализации на 100 тыс. детей до 2 лет и 460 случаев на 100 тыс. детей 2—4 лет с пневмонией [20].

В странах Европы показатель заболеваемости пневмониями у детей первых 2 лет жизни до начала национальных программ по вакцинопрофилактике колебался от 370 до 1010 на 100 тыс. детей в Германии, от 160 до 1080 — в Испании, Франции и Великобритании [21]. В Норвегии в «довакцинальный» период заболеваемость пневмониями, требующими госпитализации, была

421 и 328 на 100 тыс. детей до 2 и 5 лет соответственно [22]. В Японии частота пневмонии у детей первых 5 лет жизни составила 1970 на 100 тыс. детей, частота пневмококковой пневмонии с бактериемией — 9,2 [23].

В связи с недостаточным уровнем диагностики пневмококковой инфекции в Российской Федерации данные статистического учета не отражают истинного уровня заболеваемости. Сведения по затратам на терапию в Российской Федерации и Республике Беларусь отсутствуют, однако, учитывая заболеваемость, можно предположить, что они соизмеримы с данными США, поэтому значимость этой проблемы трудно переоценить.

Пневмококки представляют облигатную микрофлору носоглотки и ротовой полости человека [7]. Анатомо-физиологические особенности (узкий просвет евстахиевой трубы, устья синусов и др.) и ряд предрасполагающих факторов (вирусная инфекция, ночная микроаспирация) обуславливают попадание возбудителя из носоглотки в стерильные в норме локусы организма с последующим размножением и развитием инфекции. Уровень носительства *S. pneumoniae* различен у людей разного возраста: у детей до 4,5 лет — в 90% случаев, у взрослых — в 5—10% случаев. Согласно международным и российским данным, на пневмококковую инфекцию приходится до 76% этиологически расшифрованных случаев внебольничной пневмонии у взрослых и до 94% осложненных случаев — у детей.

Самыми частыми клиническими формами пневмококковой инфекции у детей являются ОСО, пневмония и менингит (5—20% всех гнойных бактериальных менингитов), у взрослых — пневмония и сепсис [13—16]. Среди инвазивных форм — около 20% случаев составляет пневмококковый менингит. По расчетной оценке ВОЗ на 1 пневмококковый менингит приходится 24 случая пневмококковой бактериемии, 132 пневмококковой пневмонии и 3750 случаев ОСО [11, 24]. Дети первых 2 лет жизни не в состоянии вырабатывать антитела на полисахаридные антигены, что делает их практически беззащитными перед возбудителем. Это особенно относится к пневмококкам 6-й и 19-й серологических групп, характеризующимся наименьшей иммуногенностью, доминирующим среди носителей и заболевших. Повышенной восприимчивостью к *S. pneumoniae* обладают недоношенные, дети с иммунодефицитными состояниями (в т. ч. ВИЧ-инфицированные), нефротическим синдромом, диабетом, серповидно-клеточной анемией и перенесшие спленэктомию [20, 25, 26]. Другой группой риска по развитию инвазивных форм и летальных исходов при пневмококковой инфекции являются лица старше 65 лет.

Фактором патогенности пневмококка является капсульный полисахарид, который обеспечивает подавление комплементзависимой бактериолитической активности крови и фагоцитарной активности лейкоцитов. Капсульный полисахарид является основным антигеном, к которому вырабатываются антитела при заболевании или здоровом носительстве пневмококка [27, 28]. Исходя из химического строения и антигенных свойств полисахаридной капсулы бактерии, выделяют 93 серологических типа *S. pneumoniae*. Генетически они существенно различаются и представляют собой изолированные субпопуляции пневмококков. Серологический тип возбудителя определяет тяжесть заболевания. Согласно результатам исследований серотипового состава *S. pneumoniae* в различных странах более 80% наиболее тяжелых инвазивных форм патологии вызывают 20 серологических типов, 70—75% заболеваний — 13 серотипов [20, 29, 30].

При проведении многоцентрового исследования по пневмококковой инфекции в России в 2001—2002 гг. обследовали 4153 ребенка до 7 лет в детских садах и детских домах в 11 городах европейской части России (Волгоград, Воронеж, Екатеринбург, Казань, Краснодар, Москва, Нижний Новгород, Санкт-Петербург, Смоленск, Уфа, Челябинск) и 8 городах азиатской части страны (Анадырь, Владивосток, Иркутск, Новосибирск, Тюмень, Хабаровск, Ханты-Мансийск, Якутск). Носительство *S. pneumoniae* выявлено в среднем у 49,3% детей в детских садах и до 86,7% — в детских домах. Преобладали пневмококки 23-й, 19-й и 6-й серологических групп: в азиатской части — в 38,2%, 23,6% и 25,5%; в европейской — в 22,2%, 24,1% и 14,8% соответственно [31].

По данным НЦДЗ РАМН, в 2010 г. среди циркулирующих *S. pneumoniae* у носителей доминировали следующие серотипы: 6A/B (25%), 19F (21%), 23F (12%) и 15B/C (7%) [32].

По данным НИИ антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии, у посещающих детские сады и дома детей, а также у пациентов до 5 лет с ОСО, пневмонией и инвазивными инфекциями в различных регионах Российской Федерации циркулируют 1-й, 3-й, 4-й, 5-й, 6-й, 7-й, 9-й, 14-й, 18-й, 19-й и 23-й серологические типы, входящие в состав 7-, 10- и 13-валентной конъюгированной вакцины. На долю пневмококков вакцинальных серологических типов приходится в среднем 405 (69,5%), 438 (75,2%) и 470 (80,7%) штаммов соответственно. Было отмечено, что подавляющее большинство устойчивых к пенициллину штаммов относятся к серологическим типам *S. pneumoniae*, входящим в данные вакцины [33].

Пневмококки 23-й, 19-й и 6-й серологических групп (серотипы 23F, 19F, 19A, 6B) часто характеризуются повышенной устойчивостью к пенициллину и другим антибактериальным препаратам, а также обладают полирезистентными свойствами, что обусловлено генетическими мутациями циркулирующих штаммов.

Снизить заболеваемость пневмококковой инфекцией, предупредить развитие генерализованных форм, сократить показатели инвалидности и смертности среди детей раннего возраста и взрослых позволит вакцинопрофилактика (можно предупредить до 50% заболеваний пневмококковой этиологии). Данные ВОЗ по разным странам убедительно показывают, что иммунизация является наиболее доступным и экономичным способом влияния на заболеваемость пневмококковой инфекцией.

Работы по созданию вакцины начаты еще в 1930-х годах, но были приостановлены, поскольку открытие сульфаниламидов и пенициллина создало иллюзию возможности легкой победы над пневмококковой инфекцией.

Одной из первых создана 23-валентная полисахаридная вакцина «Пневмо-23», включающая антигены большинства циркулирующих серологических типов *S. pneumoniae*; вакцина зарегистрирована в Беларуси и рекомендована для использования в группах риска. Она также рекомендована и для детей, воспитывающихся в интернатах, домах ребенка, санаториях, поскольку резко сокращает носительство пневмококков, в том числе резистентных, и снижает респираторную заболеваемость часто болеющих детей, в том числе инфицированных микобактериями туберкулеза [3]. Такое неспецифическое действие «Пневмо-23», вероятно, связано со стимуляцией Т1-хелпер-системы вводимыми парентерально поли-

сахаридами. Накоплен также положительный опыт применения данной вакцины в воинских коллективах и у пожилых лиц. К сожалению, 23-валентная вакцина, будучи полисахаридной, иммуногенна лишь с 2 лет, что не позволяет использовать ее для наиболее уязвимой группы — детей первых 2 лет жизни. Преодоление этого ограничения возможно при помощи конъюгирования полисахаридных антигенов с белком, что сокращает набор включенных в препарат серологических типов *S. pneumoniae*. «Превенар» (ПКВ7) стала первой конъюгированной адсорбированной пневмококковой вакциной.

В США иммунизация против пневмококковой инфекции детей с 2 мес до 2 лет введена в национальный календарь прививок в 2000 г. При сравнении эпидемиологических данных 2006 и 1998—1999 гг. отмечено уменьшение заболеваемости инвазивными пневмококковыми инфекциями на 78% у детей до 5 лет [34, 35].

У детей до 2 лет за 4 года (2001—2004) снизилось число госпитализаций при пневмококковой пневмонии на 57,6% [36], при пневмониях любой этиологии — на 39% [26, 27]. Во Франции через год после введения вакцинации детей первых 2 лет жизни уровень заболеваемости пневмококковыми менингитами сократился с 8 до 6 на 100 тыс. человек [37]. В Нидерландах через год после начала иммунизации детей 1-го года жизни пневмококковой вакциной отмечено снижение заболеваемости инвазивными формами пневмококковой инфекции на 70% [38], в Норвегии данный показатель уменьшился с 47,1 до 13,7 на 100 тыс. человек [22], в Испании — сократился на 64,3% среди детей до 1 года и на 39,7% среди детей 1—2 лет [39]. Сравнение частоты заболевания пневмококковой инфекцией, включая пневмококковый менингит, у вакцинированных и невакцинированных детей в большинстве проведенных исследований показало 80—95% эффективность иммунизации.

Массовое проведение вакцинопрофилактики, в частности введение пневмококковой вакцины в календарь профилактических прививок, приводит также к существенному уменьшению носительства *S. pneumoniae*, что в свою очередь способствует снижению заболеваемости пневмококковой инфекцией у непривитых детей и взрослых. Так, после введения пневмококковой конъюгированной вакцины в календарь профилактических прививок в большинстве развитых стран достигнуто значимое снижение заболеваемости генерализованными (инвазивными) формами пневмококковой инфекции [40]. К примеру, в результате профилактики пневмококковой инфекции у детей в США за период с 2000 по 2006 г. заболеваемость инвазивными формами пневмококковой инфекции у непривитых взрослых 50—64 лет сократилась на 84% [34].

Массовая вакцинация детей против пневмококковой инфекции рекомендована ВОЗ и ЮНИСЕФ, в результате в 45 странах мира конъюгированные пневмококковые вакцины были включены в национальные программы иммунизации детей.

В 1 дозе (0,5 мл) «Превенара» содержатся полисахариды *S. pneumoniae* серологических типов 4, 9V, 14, 19F, 23F (по 2 мкг), 2 мкг олигосахарида серологического типа 18C и 4 мкг полисахарида 6B, индивидуально конъюгированные с белком-носителем CRM₁₉₇ и адсорбированные на алюминия фосфате (0,5 мг/0,125 мг в пересчете на алюминий). В состав вакцины входят также натрия хлорид и вода для инъекций. Белок-носитель

CRM₁₉₇ является генно-модифицированной нетоксичной формой дифтерийного токсина (в течение 20 лет применяется в составе различных вакцин и прекрасно зарекомендовал себя с точки зрения безопасности).

В настоящее время в Республике Беларусь зарегистрирована 13-валентная конъюгированная пневмококковая вакцина «Превенар 13». Международное непатентованное название — вакцина пневмококковая полисахаридная конъюгированная адсорбированная 13-валентная (ПКВ13). В 1 дозе (0,5 мл) ПКВ13 содержатся капсулярные полисахариды 13 серологических типов *S. pneumoniae*: 4, 6В, 9V, 14, 18С, 19F и 23F (общие с ПКВ7), а также 1, 3, 5, 6А, 7F, 19А, индивидуально конъюгированные с дифтерийным белком CRM₁₉₇ и адсорбированные на алюминия фосфате. В состав вакцины входят также натрия хлорид, янтарная кислота, полисорбат-80, вода для инъекций. В ПКВ13 используется тот же белок-носитель CRM₁₉₇, что и в ПКВ7. Исследования по безопасности и иммуногенности данных вакцин не выявили существенных различий.

У детей 1-го года жизни, начиная с 2-месячного возраста, при использовании различных схем вакцинации наблюдали формирование защитного иммунного ответа после серии первичной вакцинации (из 3 доз) и вторичного иммунного ответа на последнюю дозу, то есть при ревакцинации. После введения 3 доз при первичной вакцинации и последующей ревакцинации отмечен значительный подъем уровня антител. Препарат индуцирует образование функциональных антител ко всем серологическим типам, включенным в вакцину, причем в титре, выше защитного по определению ВОЗ (0,35 мг/мл).

У детей от 2 до 5 лет выраженное образование антител ко всем серологическим типам наблюдалось после однократного введения пневмококковых конъюгированных вакцин, при этом иммунный ответ практически совпадал с таковым у детей первых 2 лет жизни после серии первичной иммунизации.

Иммунологическая память после применения пневмококковой конъюгированной вакцины у детей в возрасте до 6 мес со временем не снижается.

В широкомасштабном клиническом исследовании, проведенном в США (более 18 000 детей в возрасте 2, 4, 6 и 12—15 мес), показано, что специфическая эффективность конъюгированной вакцины для профилактики инвазивных форм пневмококковой инфекции составила 97% при охвате 85% этих заболеваний у детей в США и 65—80% — в европейских странах.

Эффективность в отношении бактериальной пневмонии, вызываемой серологическими типами *S. pneumoniae*, включенными в состав вакцин, составила 87,5%, достигая для отдельных серотипов 97,3—99,5%, при ОСО — 67,9%.

Среди иммунизированных детей заболеваемость ОСО, обусловленная серологическими типами, не включенными в вакцину, была выше на 33%. Тем не менее общий положительный профилактический эффект выразился в снижении частоты развития ОСО пневмококковой этиологии на 34%.

Показано, что эффективность конъюгированной вакцины при профилактике частых отитов (по меньшей мере 3 обострения заболевания в течение 6 мес) составила 18%, при рецидивирующем ОСО (3 обострения за 6 мес или 4 раза в год) — 9%, при ОСО с рецидивами 5 раз за 6 мес или 6 раз в год — 23%, при экссудативном хроническом среднем отите — 50%. Необходимость в проведении тимпаностомии у вакцинированных детей снизилась на 24—39%.

У детей с нарушениями иммунореактивности вследствие иммунодепрессивной терапии ВИЧ-инфекции или других причин может иметь место снижение образования антител в ответ на иммунизацию.

Противопоказаниями к применению пневмококковых конъюгированных полисахаридных адсорбированных вакцин являются: повышенная чувствительность к вспомогательным веществам и/или дифтерийному анатоксину, острые инфекционные и неинфекционные заболевания, обострение хронической патологии. Иммунизацию следует осуществлять после выздоровления или в стадии ремиссии.

В Республике Беларусь инструкцией по применению конъюгированных вакцин против пневмококковой инфекции вакцинация предусмотрена с 6-недельного возраста, ревакцинацию проводят однократно на втором году жизни. При начале иммунизации до 6-месячного возраста курс индивидуальной вакцинации состоит из 3 прививок с интервалами 1—2 мес между дозами, с ревакцинацией на 2-м году жизни (в 12—15 мес). При массовой иммунизации возможна вакцинация двумя дозами (в 2 и 4 мес) с последующей ревакцинацией в 11—15 мес. При начале вакцинации в возрасте от 6 до 12 мес курс состоит из 2 прививок с интервалом 1—2 мес. Ревакцинацию проводят однократно на 2-м году жизни. ПКВ13 можно вводить одновременно с другими вакцинами, включенными в Национальный календарь прививок (кроме БЦЖ) [29]. При начале иммунизации в возрасте старше 1 года вакцину вводят двукратно с интервалом 2 мес. При начале вакцинации в возрасте старше 2 лет «Превенар 13» вводят однократно.

Пневмококковые конъюгированные вакцины можно вводить детям одновременно (в 1 день) с любыми следующими антигенами, входящими в состав как моновалентных, так и комбинированных вакцин: дифтерийным, столбнячным, бесклеточным или цельноклеточным коклюшным, *Haemophilus influenzae b*, инактивированным полиомиелитным, гепатита В, коревым, эпидемического паротита и краснухи. Не обнаружены какие-либо изменения иммунологических реакций, вызываемых одновременно применяемыми вакцинами, и показателей реактогенности препаратов. Вводить вакцины во всех случаях следует в разные участки тела.

Согласно проведенным исследованиям использование ПКВ7 существенно снизило заболеваемость детей инвазивными пневмококковыми инфекциями (ИПИ). Кроме того, благодаря вакцинации ПКВ7 уменьшилась частота неинвазивных пневмококковых инфекций, таких как средний отит, а также ИПИ у лиц с иммунодефицитными состояниями, в том числе у ВИЧ-инфицированных.

В ходе проведенного в Гонконге исследования проанализировано 828 штаммов, вызвавших инвазивные пневмококковые заболевания до (1995—2001 гг., n=265) и после внедрения (2007—2009 гг., n=563) 7-валентной конъюгированной пневмококковой вакцины. За исследуемые периоды у детей до 5 лет частота выделения 14-го серологического типа снизилась с 36% до 15,7% (P<0,01), в то время как распространенность 19А увеличилась с 0 до 12% (P<0,01). Также у пациентов младше 5 лет за изучаемый период уменьшалась частота выделения серологических типов *S. pneumoniae*, входящих в ПКВ7, с 89,5% до 65,7% (на 72,8%, если включить в анализ перекрестную защиту против *S. pneumoniae* 6А); входящих в ПКВ13 — осталась стабильным (91,4—93,2%). У людей старше 65 лет частота выделения серологических типов 9V и 23F снизилась

с 3,8% до 0,3% ($P=0,01$) и с 18,9% до 7,4% ($P<0,01$) соответственно, однако статистически достоверно увеличилась частота выделения 7F — с 0 до 4,1% ($P=0,04$). Среди штаммов, выделенных у детей в возрасте до 5 лет (6B, 14, 19F, 23F, 6A и 19A), ассоциированная резистентность к пенициллину и эритромицину возросла с 44,1% до 64,2% ($P=0,01$) [12]. Одним из факторов риска по развитию тяжелых форм заболевания является возраст до 4 лет.

Однако в последнее время отмечается новый подъем заболеваемости ИПИ в связи с распространением невакцинальных, а также пенициллинорезистентных штаммов *S. pneumoniae*. Американские ученые объясняют это тем, что дыхательные пути детей, колонизированные пневмококком, являются своеобразным резервуаром, где продолжается эволюция возбудителя, что приводит к изменению его резистентных и инвазивных свойств.

Исследователи проанализировали носительство различных серологических типов *S. pneumoniae* у детей от 3 мес до 7 лет (штат Массачусетс) в течение 3 периодов сезонного подъема респираторной заболеваемости (2000—2001, 2003—2004 и 2006—2007 гг.). Причем результаты последнего этапа исследования сравнили с предыдущими данными. Колонизацию дыхательных путей различными штаммами *S. pneumoniae* оценивали по данным анализа назофарингеальных образцов, полученных в ходе визита к педиатру, с определением чувствительности микроорганизмов к антибиотикам и проведением серотипирования. По результатам тестов штаммы пневмококка разделили на чувствительные, промежуточные и резистентные в отношении следующих антибиотиков: пенициллин, амоксициллин, цефтриаксон, эритромицин, клиндамицин, триметоприм-сульфаметоксазол, левофлоксацин и ванкомицин. С момента введения в практику ПКВ7 сообщалось об изменении характера пневмококкового носительства среди детей — замещении вакцинальных штаммов *S. pneumoniae* на невакцинальные серологические типы возбудителя.

Данное исследование показало, что в течение 7 лет после внедрения ПКВ7 произошла практически полная замена штаммов, колонизирующих дыхательные пути детей, на пенициллинорезистентные серологические типы, среди которых преобладают 19A и 35B. Распространению антибиотикорезистентных штаммов способствует и частое применение антибактериальных препаратов без соответствующих показаний. На основании полученных результатов можно полагать, что при отсутствии иммунизации против соответствующих серологических типов риск развития пневмококковых заболеваний у детей остается, хотя и более низкий, чем в довакцинальную эру [17].

До внедрения массовой вакцинопрофилактики против пневмококковой инфекции детям первых лет жизни возможно проведение иммунизации в группах наиболее высокого риска по развитию тяжелых (инвазивных) форм пневмококковой инфекции:

- дети до 5 лет и взрослые старше 65 лет;
- пациенты с врожденными или приобретенными иммунодефицитными состояниями, включая ВИЧ-инфекцию;
- недоношенные дети;
- дети 1-го года жизни, рано переведенные на смешанное и/или искусственное вскармливание;
- лица, находящиеся в специальных условиях, особых детских учреждениях или организованных коллективах;

— реконвалесценты ОСО, менингита, операции по установке кохлеарного трансплантата;

— лица с хроническими заболеваниями легких, сердечно-сосудистой системы, сахарным диабетом, хронической патологией печени (включая цирроз);

— пациенты с функциональной или анатомической аспленией при серповидно-клеточной анемии или удаленной селезенке;

— лица с подтеканием спинномозговой жидкости;

— длительно и часто болеющие дети.

В конце октября 2011 г. Европейская комиссия одобрила использование 13-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины «Превенар 13» (компания «Pfizer») у людей старше 50 лет (единственный рекомендуемый препарат для иммунизации взрослых). В данной категории пациентов велик риск возникновения ИПИ, что обуславливает важность специфической профилактики. Взрослым «Превенар 13» вводят однократно. Серологические типы пневмококков, содержащиеся в ПКВ13 (1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F и 23F), обуславливают развитие значимой доли ИПИ у пожилых людей, включая заболевания, вызываемые резистентными к антибиотикам возбудителям. Однако не следует рассматривать «Превенар 13» как вакцину, обеспечивающую 100% защиту от *S. pneumoniae*. Противопоказаниями к применению «Превенар 13» является гиперчувствительность к любому из компонентов препарата или к компонентам АДС-вакцины.

Таким образом, в настоящее время существуют эффективные способы специфической профилактики ИПИ как у детей, так и у взрослых. ВОЗ рекомендует включать конъюгированные пневмококковые вакцины в национальные календари профилактических прививок. Правда, прежде чем широко использовать конъюгированную пневмококковую вакцину, необходимо провести эпидемиологическое исследование с целью определения преобладающих серологических типов *S. pneumoniae*, что в свою очередь позволит определить эффективность иммунизации с точки зрения доказательной медицины.

Список использованной литературы смотрите на сайте журнала «Здравоохранение».

Поступила 24.08.12.

UP-TO DATE APPROACHES TO PNEUMOCOCCAL INFECTION SPECIFIC PREVENTION

E. F. Katchanko, I. A. Karpov

The data of wide-scale studies carried out in the USA, Japan, Europe, and Russian Federation relating to occurrence of pneumococcal infection caused by invasive forms during the first five years of life and after 65 years of age both before and after immunization with the conjugated pneumococcal vaccine is presented. The data confirm reliably that specific prophylaxis is the most available and cost-saving way allowing reduce the disease occurrence, prevent development of pneumococcal infection caused by invasive forms, cut the invalidity and lethality rates among younger children and adults.

Key words: pneumococcal infection, immunization, conjugated pneumococcal vaccines.

Адрес для корреспонденции:

Качанко Елена Федоровна.
Республиканский клинический медицинский центр
Управления делами Перезидента Республики Беларусь.
220096, г. Минск, ул. Красноармейская, 10;
сл. тел. (8-017) 227-82-25.



**В. П. ГЕРАСИМЕНЯ, Т. И. МИЛЕВИЧ, А. Д. НАУМОВ,
С. В. ЗАХАРОВ, В. Ю. ПОЛЯКОВ, Г. И. КИРЬЯНОВ,
К. З. ГУМАРГАЛИЕВА, Л. А. ПУТЫРСКИЙ,
Ю. Л. ПУТЫРСКИЙ, М. М. САЧЕК**

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА МИЦЕЛИЯ ГРИБА «ВЕШЕНКА ОБЫКНОВЕННАЯ»

ООО «Инбиофарм», НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Институт химической физики им. Н. Н. Семенова, Россия; Институт радиобиологии НАН Беларуси, РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова Минздрава Республики Беларусь, РНПЦ медицинских технологий, информатизации управления и экономики здравоохранения Минздрава Республика Беларусь

*Приведены результаты экспериментальных (доклинических) исследований противоопухолевой активности экстракта мицелия гриба «Вешенка обыкновенная» и его способности потенцировать антибластомное действие цитостатических препаратов *in vitro* и *in vivo*.*

На основе полученных данных разработана и зарегистрирована в Российской Федерации и Республике Беларусь биологически активная добавка к пище «Экстракт мицелия вешенки «Оводорин»» (в виде геля и сиропа), применение которого в реабилитационный период может существенно повысить защитные силы организма и качество жизни онкологических больных. Компания ООО «Инбиофарм» занимается разработкой инновационного детоксикационного медицинского препарата для коррекции лекарственной непереносимости в комплексном лечении онкологических заболеваний и в реабилитационный период.

Ключевые слова: биологически активная добавка, экстракт мицелия вешенки, онкологические заболевания.

Общеизвестно, что заболеваемость и смертность населения в России и Республике Беларусь в последние годы существенно увеличились. В настоящее время ежедневно заболеваемость возрастает в среднем до 75 новых онкологических больных.

Ведущую роль в лечении онкологических заболеваний играют химически синтезированные препараты. Для лечения рака широко применяются цитостатики (циклофосфан, доксорубин, метотрексат, 5-фторурацил, таксаны и др.) [1]. Между тем нужно сознавать, что длительное применение этих препаратов вызывает серьезные побочные действия на организм человека (астения, диспепсия, панкреатит, нарушение функций печени и др.).

Анализ опыта работы по совершенствованию национальной лекарственной политики с учетом рекомендаций ВОЗ показывает, что в дополнение к современным химически синтезированным лекарственным средствам, а в перспективе, возможно, и им на смену должны прийти препараты из природного материала с различными биологически активными веществами, которые мягко воздействуют на организм

в целом и корректируют измененные функции без побочных эффектов, при этом существенно повышают общую сопротивляемость [2].

В народной медицине давно известны целительные возможности грибов (фунготерапия, наука о лечении грибами, зародилась в III веке до н. э.). В медицинской практике базидиальные грибы используют более 2000 лет, они являются источником биологически активных веществ с противоопухолевой, антимикробной, иммуномодулирующей и другой специфической медико-биологической активностью [3—5]. К базидиомицетам относятся примерно 10 000 видов грибов из 550 родов 80 семейств, однако в настоящее время только 200 видов применяют в медицинских целях. Вместе с тем в этих грибах большинство из действующих веществ не идентифицировано.

Несмотря на относительно большое число установленных лечебных свойств базидиомицетов, только порядка 10 видов так называемых медицинских грибов используют для получения лекарственных средств и биологически активных добавок (БАД) к пище.

Как в Российской Федерации, так и в Республике Беларусь на фармацевтическом рынке отечественных препаратов на основе биологически активных веществ медицинских грибов практически нет. Сдерживающим фактором практического применения медицинских грибов являлась трудоемкая и сложная работа по выделению из них чистых веществ (ферменты, антибиотики, противоопухолевые вещества и др.) [6—12].

Значительные исследования в области изучения биологически активных веществ медицинских грибов проведены в 60—70-е годы учеными СССР. Однако широкого внедрения эти результаты не получили в основном из-за отсутствия надежной технологии и базы выращивания культур, получения экстрактов и выделения из них компонентов с заданными медико-биологическими свойствами. Одним из главных стратегических направлений компании является поиск, разработка и создание нового поколения лекарственных препаратов и БАД к пище на основе природного растительного сырья [6].

Начиная с 1997 г. внимание ученых фармацевтической компании «Инбиофарм» обращено на изучение гриба «Вешенка обыкновенная», произрастающего на территории России. В результате многолетнего труда группы ученых во главе с заслуженным деятелем науки Российской Федерации, доктором технических наук, профессором В. П. Герасименей удалось выделить экстракт из мицелия гриба «Вешенка обыкновенная», выращенного в условиях искусственного культивирования с использованием принципиально новых технологий [19, 28]. Результатом плодотворной работы явились зарегистрированные 7 форм БАД к пище «Экстракт мицелия вешенки» в виде геля, спиртового раствора и сиропа. В 2008 г. в России, в 2010 г. в Республике Беларусь появились еще 2 новые формы БАД к пище «Экстракт мицелия вешенки «Оводорин»»:

— сгущенный экстракт (гель) в виде вязкого однородного концентрата (Свидетельство о гос. регистрации № 77.99.23.3.У.11397.12.09 от 14.12.2009 по ТУ 9317-01-87552538-08; Удостоверение о государственной гигиенической регистрации в Республике Беларусь 06-33-0.586427 от 03.06.2010);

— сироп, содержащий в том числе глюкозамин (Свидетельство о гос. регистрации № 77.99.23.3.У.11398.12.09 от 14.12.2009 по ТУ 9317-02-87552538-08; Удостоверение о государственной гигиенической регистрации в Республике Беларусь 08-33-0.386425 от 03.06.2010).

Нельзя не сказать об уникальном производстве препаратов, получаемых из мицелия вешенки, что во многом определяет полезные свойства экстракта. Технологический процесс включает 3 этапа [13—18]:

— выращивание биомассы мицелия: селекционные работы со штаммом; приготовление посевного материала (на агаризованной среде); глубинное культивирование мицелия (выращивание его на жидких средах и отделение от культуральной жидкости);

— преобразование сгущенного экстракта в гель: экстракция, фильтрация и упаривание (в вакууме);

— приготовление сиропа: подготовка экстракта и сиропа фруктозы, смешивание этих компонентов.

БАД к пище «Экстракт мицелия вешенки “Оводорин”» (гель), производимая в форме сгущенного экстракта, представляет собой выпаренный экстракт из мицелия вешенки (штамм 1137, ВКПМ F-819), выращенного в регулируемых асептических условиях методом глубинного культивирования на жидкой питательной среде, содержащей растительное сырье [17].

БАД к пище «Экстракт мицелия вешенки “Оводорин”» (сироп) представляет собой смесь выпаренного сгущенного экстракта мицелия вешенки (штамм 1137, ВКПМ F-819), выращенного в регулируемых асептических условиях методом глубинного культивирования на жидкой питательной среде, и сиропа фруктозы, изготовленного из смеси фруктозы, лимонной кислоты, бензоата натрия, дигидрохверцетина и воды [18].

Экстракт мицелия вешенки включает:

— углеводы (глюкоза, галактоза, манноза, арабиноза, ксилоза, галактозам, глюкозамин);

— аминокислоты (аспарагин, серин, треонин, глутамин, пролин, глицин, аланин, валин, лейцин, лизин, гистидин, аргинин, цистин, метионин, тирозин, фенилаланин);

— жирные кислоты (C10—C22);

— органические кислоты (масляная, молочная, уксусная, яблочная, щавелевая);

— витамины (B₁, B₂, B₃, B₆, PP, D, E, C);

— металлы и микроэлементы (натрий, калий, кальций, магний, фосфор, сера, железо, цинк, марганец, селен, медь, алюминий, бор, барий, кремний, литий и др.);

— воду.

Всего в составе геля определено более 75 полезных для организма биологически активных веществ, находящихся в природных, естественных соотношениях, что и обуславливает высокую биологическую активность препарата.

Дополнительно в состав биологически активных веществ экстракта введен один из самых активных природных флавоноидных антиоксидантов (дигидрохверцетин), за счет чего сироп обладает выраженной антиоксидантной активностью.

Экстракт мицелия вешенки активен в отношении как грамположительных бактерий, в том числе метициллинрезистентных и метициллинчувствительных (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *B. mycoides* 537, *B. pumilis* NCTC 8241, *Leuconostoc mesenteroides* VKPM B-4177, *Micrococcus luteus* NCTC 8340, *Staphylococcus aureus* FDA 209P, INA 00761, INA 00762), так и грамотрицательных (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Comamonas terrigena* ATCC 8461, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) [19, 20].

За эти годы проведен комплекс медико-биологических и клинических испытаний разрабатываемых и созданных препаратов на основе биологически активных веществ экстракта мицелия вешенки и получены убедительные положительные результаты их медико-биологической эффективности [21—28]. При профилактике и лечении ряда заболеваний не выявлено побочных действий. Сочетанное применение экстракта с другими фармацевтическими препаратами способствует устранению побочных эффектов последних и усиливает их синергическое действие.

В качестве объекта для проверки цитотоксичности экстракта мицелия вешенки использовали перевиваемые клетки почки зеленой мартышки (Vero). Клетки этой культуры не являются раковыми и их разрешено применять для приготовления вакцин. БАД «Экстракт мицелия вешенки» в различных концентрациях (5000, 2500, 1000, 500 и 100 мкг/мл) вносили в среду культивирования клеток Vero. Проведенные исследования показали, что в течение 7 сут наблюдений в концентрациях 1000, 500 и 100 мкг/мл экстракт не вызывал видимых цитопатических изменений как монослоя, так и индивидуальных клеток Vero. Четко тестируемые изменения у 50% клеток наблюдали при концентрации БАД «Экстракт мицелия вешенки» 2500 мкг/мл. Таким образом, ЛД₅₀ для данной культуры клеток составила 2500 мкг/мл.

Определение доли делящихся клеток (митотический индекс) в контрольных клетках HeLa и клетках, обработанных БАД «Экстракт мицелия вешенки», показало, что экстракт в концентрации 50 и 100 мкг/мл через 24 ч незначительно увеличил митотический индекс за счет возрастания доли патологических митозов.

Появление характерных хромосомных aberrаций типа «мост» в клетках, обработанных экстрактом, свидетельствовал о том, что одной из возможных мишеней его действия является ДНК.

В условиях однократного введения экстракта мицелия вешенки в среду культивирования он практически не является индуктором апоптоза.

После 3 сут культивирования в среду добавляли экстракт в концентрации 50 мкг/мл на 8 ч, затем экстракт в концентрации 100 мкг/мл. После повторного введения БАД «Экстракт мицелия вешенки» клетки инкубировали 16 ч. Полученные результаты показывают, что использованный протокол воздействия по-

вышает долю апоптических клеток в популяции примерно в 15 раз.

Ярко выраженное действие на пролиферацию клеток экстракт проявляет при сочетанном использовании с цитостатиками (циклофосфан, доксорубин и метотрексат).

При использовании БАД «Экстракт мицелия вешенки» в дозе 50 мкг/мл и циклофосфана 300 мкг/мл не отмечалось подавления пролиферации, однако при повышении концентрации БАД до 100 мкг/мл наблюдалось обратное.

На основании клинических рекомендаций в пересчете на 1 мл среды культивирования использовали цитостатики в следующих дозах: доксорубин — 0,01 мкг/мл, метотрексат — 4 мкг/мл, 5-фторурацил — 20 мкг/мл. При сочетанном действии экстракта мицелия вешенки и цитостатиков в указанной концентрации наблюдалось полное ингибирование митозов.

Анализ показал, что для индукции апоптоза наиболее эффективна предварительная обработка клеток экстрактом мицелия вешенки (1 ч) с последующим введением цитостатиков (7 ч). При этом эффективность действия БАД существенно зависела от типа цитостатика.

Циклофосфан. Инкубация клеток с экстрактом мицелия вешенки (50 и 100 мкг/мл, 1 ч обработки) и последующее добавление циклофосфана (300 мкг/мл, 8 ч совместного действия) резко стимулирует апоптоз (количество апоптотических клеток в этих условиях возрастало примерно в 5—6 раз по сравнению с контролем).

Доксорубин. При сочетанном действии с БАД «Экстракт мицелия вешенки» доля апоптотических клеток увеличилась в 1,5—2 раза по сравнению с использованием только доксорубина. Это означает, что по сравнению с контролем количество клеток, включивших программу апоптоза, возросло примерно в 25 раз.

Метотрексат. При сочетанном действии с БАД «Экстракт мицелия вешенки» метотрексат примерно в 4 раза увеличилась доля апоптотических клеток по сравнению с его индивидуальным использованием.

На основании проведенных экспериментов можно предположить, что БАД «Экстракт мицелия вешенки» детерминирует переход клеток в «преапоптотическое состояние». В таком случае последующая обработка цитостатиками приводит к включению программы апоптоза.

Также провели исследования индивидуального и сочетанного действия БАД, доксорубина и циклофосфана на клетки суспензионной культуры человеческого миелоидного лейкоза. Клетки инкубировали 1 ч в присутствии экстракта мицелия вешенки (100 мкг/мл), после чего добавляли в среду культивирования доксорубин (0,0002 мкг/мл), циклофосфан (300 мкг/мл) и инкубировали в течение 8 и 24 ч. В качестве контроля клетки инкубировали в присутствии БАД «Экстракт мицелия вешенки» и доксорубина в тех же концентрациях.

Полученные данные показали, что при раздельном воздействии БАД «Экстракт мицелия вешенки»

и доксорубин незначительно увеличили количество апоптотических клеток (до 6% и 12% соответственно). Циклофосфан не вызывает увеличения количества апоптотических клеток по сравнению с контролем.

Использование смеси реагентов в течение 8 ч значительно эффективнее индуцировало апоптоз в лейкозных клетках (27%). Более сильная стимуляция апоптотической гибели наблюдалась, если клетки в смеси реагентов инкубировать 24 ч. При такой постановке эксперимента в апоптоз вступают около 70% клеток исследуемой популяции.

Таким образом, сочетание БАД «Экстракт мицелия вешенки», доксорубина и циклофосфана может быть использовано для терапии некоторых форм лейкозов. Важно, что концентрация доксорубина, используемая в эксперименте, намного ниже дозы, рекомендованной для медицинского применения.

Раздельное или сочетанное действие на нормальные фибробласты человека циклофосфана и БАД «Экстракт мицелия вешенки» не приводило к индукции апоптотической гибели клеток.

Сочетанная обработка по протоколу, предусматривающему предварительную инкубацию клеток с циклофосфаном в дозе 300 мкг/мл (1 ч), а затем добавление экстракта в дозах 50 или 100 мкг/мл и инкубацию до 8 ч, приводило к повышению числа клеток, вступающих в процесс деления. Количественный анализ показал, что митотический индекс возрастал примерно в 3 раза. Количество апоптотических клеток при этом не изменялось по сравнению с контролем.

Сочетанная обработка по протоколу, предусматривающему предварительную инкубацию клеток с БАД «Экстракт мицелия вешенки» в дозе 50 мкг/мл (1 ч), а затем добавление циклофосфана в дозе 300 мкг/мл (1 ч) и инкубацию до 8 ч, приводило к более значительному повышению числа клеток, вступивших в процесс деления. Количественный анализ показал, что митотический индекс при этом возрастал примерно в 4—5 раз, а число апоптотических клеток уменьшалось примерно в 3 раза. Одновременное введение циклофосфана и БАД «Экстракт мицелия вешенки» практически не влияло на пролиферацию.

На основании проведенных исследований можно сделать предварительное заключение о том, что клеточный ответ трансформированных и нормальных клеток на индивидуальное и сочетанное действие экстракта мицелия вешенки и циклофосфана принципиально различался. В трансформированных клетках эти реагенты при определенном соотношении и методе введения способны индуцировать апоптотическую гибель клеток, тогда как их действие на нормальные клетки ограничивается эффектом, показывающим только возрастание доли делящихся клеток.

Опыты по выявлению противоопухолевой активности БАД показали, что экстракт мицелия вешенки, введенный мышам в лечебном режиме с использованием моделей карциномы Эрлиха, лимфоидной лейкемии L 1210, противоопухолевой активности не проявлял и не оказывал влияния на химиотерапевтическую эффективность доксорубина, метотрексата, циклофосфана.

При предварительном введении экстракта мицелия вешенки до имплантации мышам клеток карциномы Эрлиха и применения циклофосфана наблюдалось достоверное увеличение средней продолжительности жизни мышей-опухоленосителей на 36% ($P < 0,001$). В то же время циклофосфан обусловил увеличение средней продолжительности жизни мышей на 28% ($P < 0,02$). Эти результаты свидетельствуют о повышении химиотерапевтической эффективности циклофосфана в случае предварительного введения экстракта мицелия вешенки.

При сочетанном лечебно-профилактическом использовании препарата (5 сут предварительного и 5 сут повторного введения после имплантации клеток карциномы Эрлиха) получили достоверные результаты по повышению химиотерапевтической эффективности циклофосфана, о чем свидетельствовало увеличение средней продолжительности жизни мышей по сравнению с животными контрольной группы на 58% ($P < 0,001$).

Влияние БАД «Экстракт мицелия вешенки» и циклофосфана на FP-экспрессирующие модельные опухоли мышей оценивали по следующим параметрам:

— масса тела животных на протяжении 24 сут (ежедневно);

— изменение площади опухоли после введения БАД и циклофосфана на протяжении 21 сут;

— количество лейкоцитов в периферической крови (0-е, 1-е, 3-е и 7-е сутки) после начала эксперимента;

— флюоресцентные изображения опухоли на протяжении 21 сут (каждые 2 сут).

Исследования проводили на мышах C57 BL/6, самцах (возраст 6 нед, вес 23—30 г). В 1-й группе животным вводили циклофосфан (300 мг/кг) совместно с БАД (100 мг/кг), во 2-й — только циклофосфан (300 мг/кг), в 3-й — только БАД (100 мг/кг); 4-я группа — интактный контроль (мышы с первичной опухолью).

При этом циклофосфан мышам вводили однократно после 5 сут перепривитой опухоли, а БАД — ежедневно на протяжении первых 10 сут.

Исследуемая опухоль — мышьяная меланома B16-GFP.

Регистрацию флюоресцентных изображений проводили в закрытом темном ящике. Животных облучали с помощью 2 световодных жгутов от лампового источника света с интерференционным фильтром, пропускающим свет с длиной волны 470 нм. Флюоресценцию регистрировала охлаждаемая камера «Hamamatsu C5810» через фильтр (GG475), отсекающий излучение возбуждения. Флюоресцентные изображения 1024×724 пикселей обрабатывали и анализировали с использованием IMAGE PRO PLUS 3.1.

Анализ полученных данных серии опытов позволил сделать вывод о том, что применение экстракта мицелия вешенки снижает выраженность и продолжительность лейкопении, вызванные введением животным циклофосфана в дозе 300 мг/кг (ЛД₂₅).

Судя по полученным значениям массы тела мышей, площади опухоли и флюоресцентных изображений новообразования, совместное применение цик-

лофосфана с БАД «Экстракт мицелия вешенки» резко снижает развитие меланомы B16-GFP у животных. Следует отметить, что применяемый БАД без циклофосфана также тормозит рост опухоли в исследуемой группе мышей, что подтверждает полученные ранее результаты по противоопухолевой активности экстракта относительно угнетения рака молочной железы Эрлиха.

Метастазирование солидных опухолей — один из ключевых признаков ее злокачественности. Появление метастазов на ранних этапах лимитирует эффективность всех известных способов лечения опухоли (хирургическое удаление, химио- и лучевая терапии и др.), применяемых в онкологии.

Эксперименты проводили на мышах самках F₁ (CBA×C57Bl/6) массой тела 20—22 г. Спонтанно метастазирующую карциному легкого Льюис трансплантировали в мышцу бедра задней лапы экспериментальных животных. БАД «Экстракт мицелия вешенки» вводили внутривентрикулярно в дозе 50 и 100 мг/кг массы тела, начиная со 2-х суток после трансплантации опухоли, введение прекращали за сутки до окончания эксперимента. Циклофосфан вводили внутривентрикулярно в дозе 100 мг/кг трехкратно 1 раз в неделю, начиная с 5-х суток после трансплантации опухоли, в дозе 300 мг/кг однократно на 5-е сутки после трансплантации опухоли, через 2 ч начинали введение БАД в дозе 100 мг/кг. На 14-е сутки фиксировали размер опухоли, определяя ее средний диаметр. Мышей забивали на 23-и сутки после трансплантации опухоли, измеряли массу животных и опухоли, легкие взвешивали и фиксировали в растворе Боуэна.

Полученные результаты оценивали по следующим параметрам: масса опухоли, а также легких с метастазами; относительное изменение массы тела экспериментальных животных; количество метастатических узлов в легких; биохимические показатели крови; клеточный состав крови (лейкоциты, эритроциты, тромбоциты).

Биохимический анализ сыворотки крови выполняли на анализаторе «KONE Ultra» (Финляндия), используя стандартные тест-наборы реактивов фирмы «DiaSys» (Германия) — для определения активности трансаминаз, «BioSystems» (Испания) — для установления активности щелочной фосфатазы и «Chronolab» (Швейцария) — для определения содержания общего билирубина.

Анализ полученных результатов серии опытов позволил сделать вывод о том, что БАД «Экстракт мицелия вешенки» в дозе 100 мг/кг ингибировал интенсивность метастазирования (по числу метастазов в легких) и массу метастатических узлов. В комбинации с циклофосфаном (100 мг/кг) повышал эффективность антиметастатического действия цитостатика, увеличивая уровень торможения метастазирования с 69% до 94%. При введении высоких доз циклофосфана (300 мг/кг) БАД «Экстракт мицелия вешенки» (100 мг/кг) наглядно демонстрировал способность снижать токсические эффекты цитостатика, увеличивая продолжительность жизни животных в условиях проводимого эксперимента более чем на 180%.

Таким образом, в результате проведенных экспериментальных (доклинических) исследований получены результаты, подтверждающие противоопухолевую активность экстракта мицелия гриба «Вешенка обыкновенная» и его способность потенцировать антибластомное действие цитостатических препаратов *in vitro* и *in vivo*.

Экстракт мицелия вешенки проявляет выраженные антиоксидантные свойства при влиянии на опухолевую кахексию, снижая потерю массы тела и нормализуя биохимические показатели крови. При сочетанном применении экстракта с цитостатиками выявлено ингибирующее влияние как самого экстракта на развитие метастазирующего процесса опухоли в организме, так и повышение антиметастазного эффекта цитостатиков.

Учитывая медико-биологические свойства экстракта мицелия вешенки, можно рекомендовать разработанные и производимые БАД к пище «Экстракт мицелия вешенки «Оводорин»» в виде геля и сиропа для применения у онкологических больных в реабилитационный период, что позволит существенно повысить защитные силы организма человека и качества жизни больных.

В медицинской практике сегодня отсутствуют средства «сопровождения» химиотерапии (так называемые адаптогены). Полученные результаты экспериментальных (доклинических) исследований экстракта мицелия гриба «Вешенка обыкновенная» положены компанией ООО «Инбиофарм» (Москва) в основу разработки инновационного детоксикационного медицинского препарата для коррекции лекарственной непереносимости в ходе комплексного лечения онкологических заболеваний и в реабилитационный период.

ЛИТЕРАТУРА

1. Корман Д. Б. Основы противоопухолевой химиотерапии.— М., 2006.
2. Комбинированное и комплексное лечение рака легкого, молочной железы, пищевода и прямой кишки в условиях применения растительных адаптогенов и лазерного облучения крови: Методич. рекомендации.— Министерство здравоохранения и медицинской промышленности РФ.— СПб., 1996.
3. Borchers A. T., Stern J. S., Hackman R. M., et al. // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*— 1999.— Vol. 221, № 4.— P. 281—293.
4. Wasser S. P. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.*— 2002.— Vol. 60, № 3.— P. 58—74.
5. Xie J. T., Wang C. Z., Wicks S., et al. // *Exp. Oncol.*— 2006.— Vol. 28, № 1.— P. 25—29.
6. Герасименя В. П. Состояние и перспективы использования в медицине биологически активных веществ базидиальных грибов, модулирующих в организме проявление гематологической токсичности противоопухолевых препаратов и коррекции пострадиационных нарушений (обзор литературы).— М., 2002.
7. Анофелес С. // *Химия и жизнь* — XXI век.— 2010.— № 8.— С. 30—35.
8. Fullerton S. A., Samadi A. A., Tortorelis D. G., et al. // *Mol. Urol.*— 2000.— Vol. 4, № 1.— P. 7—13.
9. Harada T., Masuda S., Arai M., et al. // *Biol. Pharm. Bull.*— 2005.— Vol. 28, № 12.— P. 2342—2345.
10. Bobek P., Galbavy S., Ozdin L. // *Oncol. Rep.*— 1998.— Vol. 5, № 3.— P. 727—730.
11. Sarangi I., Ghosh D., Bhutia S. K., et al. // *Int. Immunopharmacol.*— 2006.— Vol. 6, № 8.— P. 1287—1297.
12. Shlyakhovenko V., Kosak V., Ollishevsky S. // *Exp. Oncol.*— 2006.— Vol. 28, № 2.— P. 132—135.
13. Герасименя В. П., Ефременкова О. В., Орлов А. Е. и др. Патент РФ «Препарат, влияющий на тканевый обмен, и применение штамма гриба *P. ostreatus* 1137 для его получения» № 2192873 от 20.11.2002. Бюл. № 32.
14. Отчет о НИР. Биосинтез антиоксидантных веществ штаммом *Pleurotus ostreatus*. Кумм 1137. (Шифр «ОВО-Д — 2002»).— М., 2002.
15. Технологическая инструкция по производству БАД к пище «Экстракт мицелия вешенки «Оводорин»» (к ТУ 9317-01-87552538-08).— М., 2008.
16. Технологическая инструкция по производству БАД к пище «Экстракт мицелия вешенки «Оводорин»» (сироп) (к ТУ 9317-02-87552538-08).— М., 2008.
17. Технические условия (ТУ 9317-01-87552538-08). Биологически активная добавка к пище «Экстракт мицелия вешенки «Оводорин»».— М., 2008.
18. Технические условия (ТУ 9317-02-87552538-08). Биологически активная добавка к пище «Экстракт мицелия вешенки «Оводорин»» (сироп).— М., 2008.
19. Gerasimenya V. P. // *Int. J. Med. Mushrooms.*— 2002.— Vol. 4.— P. 127—132.
20. Конопля Е. Ф., Милевич Т. И., Герасименя В. П. и др. // *Вестн. НАН Беларуси. Сер. мед.-биол. наук.*— 2002.— № 3.— С. 92—96.
21. Конопля Е. Ф., Милевич Т. И., Путырский Л. А. и др. // *Новые лекарственные средства: синтез, технология, фармакология, клиника: Тез. докл. Междунар. науч. конф.*— Минск, 2001.— С. 73—74.
22. Милевич Т. И., Конопля Е. Ф., Машкович А. Е. и др. // *Актуальные проблемы онкологии и медицинской радиологии: Сб. науч. работ.*— Минск, 2002.— С. 509—514.
23. Шаповалова Л. М., Орлов А. Е., Герасименя В. П. и др. Исследование противоопухолевых, антиметастатических и антиоксидантных свойств БАД «ОВО-Д»: Тез. докл. XII Российского национального конгресса «Человек и лекарство».— М., 2005.
24. Миерович И. Г., Герасименя В. П., Орлов А. Е. и др. // *Рос. биотерапевт. журн.*— 2005.— Т. 4, № 3.— С. 95—100.
25. Орлов А. Е., Герасименя В. П., Трезвова А. В. и др. Практическая фитотерапия.— М., 2007.— Т. 2.— С. 30—38.
26. Поляков В. Ю., Кирьянов Г. И., Герасименя В. П. и др. // *Биологич. мембраны.*— 2007.— Т. 24, № 5.— С. 379—388.
27. Шаповалова Л. М. // *PRO здоровье.*— 2008.— № 3.— С. 30—31.
28. Герасименя В. П., Захаров С. В., Путырский Л. А. и др. Противоопухолевое действие экстракта мицелия вешенки. Экспериментальные и клинические исследования.— М., 2009. Поступила 13.10.11.

ANTITUMOR ACTIVITY OF MYCELIUM EXTRACT FROM OYSTER MUSHROOM

V. P. Gerasimenya, T. I. Milevich, A. D. Naumov, S. V. Zakharov, V. I. Polyakov, G. I. Kiriyanov, K. Z. Gumargaliyeva, L. A. Putyrsky, Yu. L. Putyrsky, M. M. Sachek

The results obtained in experimental (preclinical) studies of antitumor activity of mycelium extract from oyster mushroom are presented and its capability of potentiating the cytostatic preparations antitumor effect at the *in vitro* and *in vivo* levels is described. Basing on the data obtained the biologically active supplements "Ovodorin, mycelium extract from oyster mushroom" in form of gel and syrup were developed and registered in the Russian Federation and in the Republic of Belarus. The preparation administration during the restoration period can increase markedly the body protection and the quality of life of oncologic patients. "Inbiopharm, Ltd." develops an innovative detoxification preparation for correcting the medicinal intolerance during oncologic diseases complex therapy and the restoration period.

Key words: biologically active supplement, mycelium extract from oyster mushroom, oncologic patients.

Адрес для корреспонденции:

Милевич Татьяна Ивановна.
Институт радиобиологии НАН Беларуси.
246007, г. Гомель, ул. Федининского, 4; сл. тел. (8-0232) 57-07-06.



Э. А. МИХНЕВИЧ, Н. И. АРТИШЕВСКАЯ,
Н. А. КРУЧИНА

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗНОГО КОКСИТА

Белорусский государственный медицинский университет,
2-я городская клиническая больница Минска

Представлен классический случай туберкулезного коксита. Отмечены трудности ранней постановки данного диагноза. Проведена дифференциальная диагностика туберкулезного коксита и коксопатий другой этиологии, часто встречающихся в клинической практике. Особое внимание уделено коксартрозу. Поскольку туберкулезный коксит может привести к тяжелым последствиям, данный диагноз всегда следует рассматривать при одностороннем поражении тазобедренного сустава.

Ключевые слова: туберкулезный коксит, дифференциальная диагностика, коксартроз, коксопатии.

В практике врача-ревматолога относительно редки случаи туберкулезных артритов. Сложность своевременной диагностики связана с длительным отсутствием клинических и лабораторных признаков активно протекающего инфекционно-воспалительного процесса в суставах, наличием неспецифических рентгенологических изменений. Такие пациенты, как правило, наблюдаются в поликлинике по месту жительства по поводу наиболее часто встречающихся заболеваний суставов (артроз и др.). В отделение ревматологии госпитализируют уже с поздними стадиями артритов, когда произошли значительные деструктивные изменения костных структур, составляющих сустав [1—3].

Случай туберкулезного коксита, описанный в статье, интересен тем, что пациентка более 2 лет наблюдалась амбулаторно, дважды была госпитализирована, но правильный диагноз выставлен только на поздней стадии болезни. Представляя этот случай, провели также дифференциальную диагностику с другими коксопатиями, наиболее часто встречающимися в клинической практике.

Пациентка К., 1958 г. р., жительница Минска, поступила в конце января 2010 г. в отделение ревматологии 2-й ГКБ Минска с жалобами на выраженные боли в области правого тазобедренного сустава, ягодицы и всей правой нижней конечности в состоянии покоя и усиливающиеся при малейшем движении, температуру до 38,5°C, озноб, учащенное сердцебиение, отсутствие аппетита, общую слабость и головокружение.

Анамнез болезни. Впервые болевые ощущения в правом тазобедренном суставе возникли в 2006 г. Боли носили механический характер, непостоянные, появлялись иногда к концу рабочего дня, при подъеме тяжести. При рентгенографии костей таза в этот период описаны начальные проявления остеоартроза. Постоянный характер болей пациентка отмечала с конца 2008 г., в связи с чем была госпитализирована в отделение ревматологии по месту жительства. В общем анализе крови выявлено снижение уровня гемоглобина и эритроцитов (87 г/л и $3 \cdot 10^{12}$), увеличе-

ние палочкоядерных лейкоцитов до 16% и СОЭ до 48 мм/ч; в биохимическом — уменьшение содержания железа в крови до 5,2 ммоль/л (норма 10,6—28,3 ммоль/л), увеличение уровня АСТ до 95 ЕД/л (норма 4—38 ЕД/л) и АЛТ до 44 ЕД/л (норма 3—31 ЕД/л), высокий уровень в крови γ -глутамилтранспептидазы до 829 ЕД/л (норма 7—61 ЕД/л).

На рентгенограмме костей таза изменения описаны как двухсторонний коксартроз, II рентгенологическая стадия (рис. 1). На рентгенограмме органов грудной клетки отмечены эмфизема легких, базальный пневмосклероз, склероз дуги аорты и гипертрофия левого желудочка. При ультрасонографии органов брюшной полости выявлены жировой гепатоз, хронический калькулезный холецистит.

Выписана с диагнозом: двухсторонний коксартроз, II рентгенологическая стадия, функциональный класс 2. Желчнокаменная болезнь. Хронический калькулезный холецистит. Сахарный диабет, 2-й тип, клинико-метаболическая компенсация. Артериальная гипертензия II стадии, риск 4.

В декабре 2009 г. пациентка госпитализирована в отделение гастроэнтерологии 9-й ГКБ Минска, где диагностировали язвенную болезнь желудка, осложненную кровотечением, что расценили как результат применения нестероидных противовоспалительных препаратов.

Обращают внимание следующие лабораторные показатели: высокий уровень СОЭ (55 мм/ч) и сохраняющаяся анемия (гемоглобин — 86,9 г/л, эритроциты — $3,19 \cdot 10^{12}$). В связи с болевым синдромом в области правого тазобедренного сустава выполнена рентгенография костей таза, в ходе которой обнаружены выраженные дегенеративно-дистрофические изменения правого тазобедренного сустава с участками кистозной перестройки (рис. 2).

После выписки пациентка отмечала усиление болевого синдрома, боли стали беспокоить не только при движении, но и в состоянии покоя, по ночам. Несмотря на боли и хромоту, она продолжала работать. С декаб-

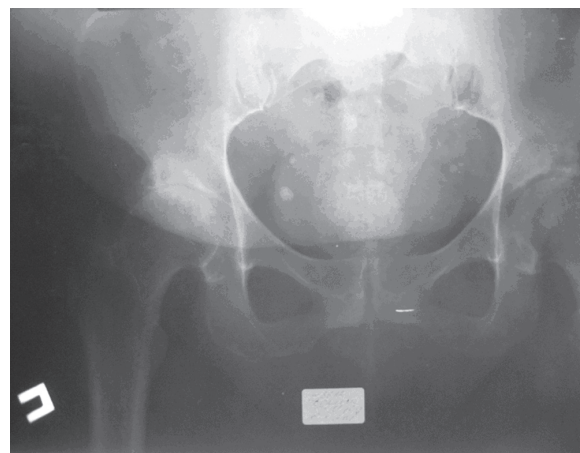


Рис. 1. Рентгенограмма костей таза (ноябрь 2008 г.). В правом тазобедренном суставе определяется сужение суставной щели в сравнении с таковой с левой стороны, остео-склероз суставных поверхностей, остеофиты, субхондральные кисты, больше в крыше вертлужной впадины

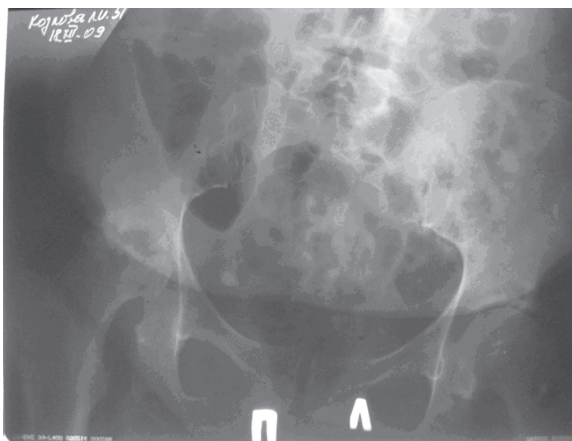


Рис. 2. Рентгенограмма костей таза (декабрь 2009 г.). Суставная щель справа не определяется (слева прослеживается). Обнаружены дефекты головки бедренной кости справа, остеосклероз суставных поверхностей, остеофиты

ря 2009 г. периодически отмечала подъем температуры, озноб по вечерам. За январь 2010 г. похудела на 8 кг. Усиление болевого синдрома в тазобедренном суставе, резистентность к нестероидным противовоспалительным препаратам и анальгетикам, ухудшение общего состояния послужили поводом для госпитализации в отделение ревматологии 2-й ГKB Минска.

Анамнез жизни. С 2006 г. часто болеет (от 3 до 5 раз в год переносила респираторные инфекции). С 2006 г. развился сахарный диабет (2-й тип), принимает диабетон. Курит более 20 лет. По словам детей, практически ежедневно употребляет крепкие алкогольные напитки. Месячные отсутствуют с 46 лет.

Данные объективного осмотра. Общее состояние тяжелое. Сознание ясное. Телосложение нормостеническое, повышенного питания. Температура в течение дня колеблется от 38,6 до 39,3°C. Бледность кожных покровов. Положение в кровати вынужденное, на левом боку, полусидячее. Щитовидная железа не увеличена, однородна и безболезненна при пальпации. Над легкими перкуторно — легочной звук, аускультативно — дыхание везикулярное, частота дыхания — 22 в 1 мин. Артериальное давление 130/80 мм рт. ст. Сердце — левая граница смещена на 1 см влево от левой среднеключичной линии в пятом межреберье, при аускультации тоны приглушены, на верхушке функциональный систолический шум, частота сердечных сокращений — 102 уд./мин. Живот при пальпации мягкий, чувствительный в правом подреберье, положительный симптом Орнтера. Печень выступает из-под края реберной дуги на 2 см, малоблезненна. Признаков асцита нет. Отеков нет. Симптом поколочивания по поясничной области отрицателен с обеих сторон. Суточный диурез 1,2 л.

Позвоночник: сглажены физиологические изгибы, боль при пальпации остистых отростков поясничного отдела. Правая ягодичная область: боль при пальпации, гипотрофия мышц, их контрактура. Правая нога короче левой на 3 см. Гипотрофия четырехглавой мышцы справа: 2,5 см менее объема левой мышцы при измерении на одном уровне. Движения активные и пассивные в правом тазобедренном суставе отсутствуют. В левом тазобедренном: сгибание — 90°, внутренняя ротация — 10°, наружная ротация — 35°. Пра-

вый коленный сустав: без припухания, болезненна пальпация всех энтезисов, особенно медиальных; левый коленный — без особенностей.

Инструментальное обследование. Общий и биохимический анализы крови показали высокий уровень СОЭ (70 мм/ч) и С-реактивного протеина (33,4 мг/дл), снижение содержания гемоглобина и эритроцитов крови (80,7 г/л и $2,76 \cdot 10^{12}$ соответственно). Рентгенография легких: сердце, аорта и легкие в пределах возрастных изменений. Рентгенография костей таза выявила выраженные деструктивные изменения в правом тазобедренном суставе (рис. 3).

Учитывая факторы риска развития остеоарткулярного туберкулеза, течение заболевания, синдром интоксикации, одностороннее поражение тазобедренного сустава, повышение уровня острофазовых проб (С-реактивный белок, СОЭ), данные рентгенологического исследования, подозрение пало на инфекционный артрит, с большой вероятностью туберкулезной этиологии. Пациентку направили на консультацию к ортопеду-фтизиатру, который выставил следующий диагноз: туберкулезный правосторонний коксит, патологический подвывих, выраженный болевой синдром. Для дальнейшего лечения ее перевели в хирургическое отделение внелегочного туберкулеза 1-го противотуберкулезного диспансера Минска под наблюдение ортопеда-фтизиатра.

Данный случай — классический вариант течения туберкулезного коксита, когда диагноз был выставлен на поздней стадии, при уже имеющейся значительной деструкции костей, составляющих сустав, с выраженными функциональными нарушениями, последующим выходом пациентки на инвалидность (передвигается на костылях).

Можно ли было поставить диагноз раньше? На что следовало обратить внимание? Насторожить должны были следующие факты:

— факторы риска остеоарткулярного туберкулеза: травматизм по характеру трудовой деятельности, сахарный диабет, предшествующий артроз, злоупотребление алкоголем;

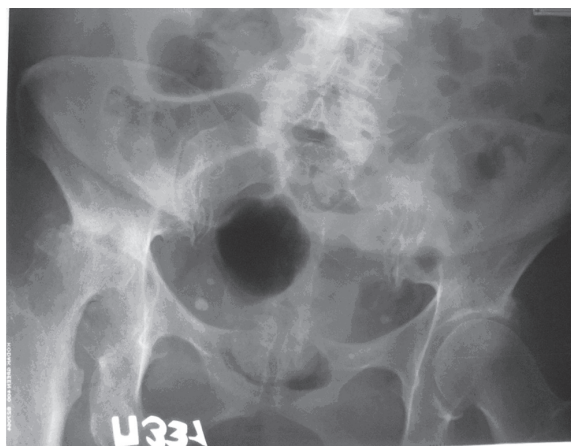


Рис. 3. Рентгенограмма костей таза (январь 2010 г.). Левый тазобедренный сустав: незначительное сужение суставной щели, склероз и краевые костные разрастания. Правый тазобедренный сустав: головка бедренной кости смещена вверх (патологический подвывих), почти полностью разрушена. Суставная щель сужена, частично разрушена крыша вертлужной впадины. В параартикулярных мягких тканях определяются плотные фрагменты, похожие на секвестры

— относительно молодой возраст пациентки (до 60 лет);

— характерное длительное хроническое течение с постепенным нарастанием болевого синдрома и ухудшением функциональности сустава; при этом процесс был односторонний; болевой синдром вначале носил механический характер, с конца 2009 г. — смешанный (боль беспокоила и при движении, и в состоянии покоя по ночам);

— тот факт, что в течение последних 3 лет у пациентки отмечали высокий уровень СОЭ в крови, беспокоила лихорадка с ознобом.

Обращает на себя внимание динамика рентгенологических изменений: в 2008 г. признаки остеоартроза II рентгенологической стадии; в декабре 2009 г. на фоне дегенеративных изменений отмечаются дефекты костной ткани, описываемые рентгенологом как участки кистозной перестройки головки бедренной кости; в 2010 г. определяются признаки поздней стадии туберкулезного артрита (разрушена головка бедренной кости и часть крыши вертлужной впадины, осложнения в виде патологического подвывиха бедра, наличие в параартикулярных тканях секвестров).

Таким образом, факторы риска остеоартрозно-туберкулеза, включая предшествующий артроз сустава, относительно молодой возраст пациентки, воспалительно-механический характер болевого синдрома, воспалительные изменения в крови, динамика рентгенологических данных в течение 2 лет, отсутствие ярких признаков остеоартроза (остеофитоз) должны были насторожить в плане инфекционного специфического процесса, провести дообследование (КТ, МРТ суставов) на раннем этапе заболевания.

Туберкулезное поражение суставов — патология нечастая. Из этого следует, что возможность такого диагноза рассматривается редко. В современных условиях, когда наблюдается повсеместный рост туберкулезной инфекции, умение правильно ориентироваться в выявлении пациентов с подозрением на туберкулезный артрит определяется знанием этой патологии.

Из всех факторов риска развития остеоартрозно-туберкулеза выделим травму [4, 5]. Некоторые авторы сюда относят имеющийся артроз сустава [6]. У части больных первичный очаг туберкулеза в легких отсутствует, как и в описанном случае. Из периферических суставов наиболее часто в патологический процесс включаются коленные и тазобедренные суставы. В 70—90% случаев поражен один сустав. На начальных этапах отличить туберкулезный процесс от артроза очень сложно. Болевой синдром может носить механический или смешанный характер. Часто пациенты обращаются уже с осложнениями (параартикулярный абсцесс, суставные и мышечные контрактуры, патологический вывих и патологический перелом) [1, 2]. Обращает внимание неэффективность проводимого лечения.

Рентгенологические изменения неспецифичны и развиваются медленно, месяцами. На ранних стадиях болезни появляется периартикулярная остеопения. Нечеткость поверхности субхондральной кости и краевые эрозии с плохо очерченными краями развиваются только после нескольких недель или месяцев. Сужение межсуставных щелей является относительно поздним признаком, к ним также относят субхондральные кисты, периоститы и околосуставную кальци-

фикацию. В отличие от инфекционного артрита другой этиологии при туберкулезном артрите реактивный склероз костной ткани отсутствует во время активной фазы инфекции, появляясь, как правило, после проведенного лечения. В последнее время отмечают наличие микст-форм, например, комбинация артроза и туберкулезной инфекции в суставе характеризуется появлением кистозной перестройки кости [6]. В анализе крови СОЭ повышена, чаще в артритическую стадию. Кожный тест, как правило, положительный.

Важно дифференцировать туберкулезный артрит от дегенеративно-дистрофических процессов, инфекционных артритов другой этиологии, кокситов при других воспалительных заболеваниях суставов, онкологических процессов [1, 2, 6].

Наиболее частой формой коксопатии, от которой следует дифференцировать туберкулезный коксит, является коксартроз. Характерен механический тип болей. Чаще развивается у лиц старше 60 лет, занятых физическим трудом. Заболевание развивается медленно, годами. В патологический процесс вовлекаются, как правило, симметричные группы суставов, если артроз не посттравматический. Лабораторные показатели без особенностей. На рентгенограммах определяется склероз суставных поверхностей, ранний остеофитоз и постепенное сужение суставной щели. В более поздний период появляются субхондральные кисты. Дифференциальная диагностика клинико-anamnestических и рентгенологических признаков туберкулезного коксита и коксартроза (таблица) позволит на ранних этапах заподозрить туберкулезную инфекцию и своевременно провести углубленное обследование таких пациентов (КТ или МРТ, консультация фтизиатра).

Асептический некроз чаще развивается в головке бедренной кости у молодых мужчин 25—35 лет. Как правило, чаще возникает у лиц, занятых тяжелым физическим трудом, вследствие интоксикации (алкогольной), травмы (тяжелые ушибы сустава, переломы костей таза), после длительной кортикостероидной терапии. Постепенно появляется боль в суставе при физической нагрузке, хромота, ограничение подвижности сустава. При объективном осмотре характерно сохранение гибкости при раннем ограничении отведения и внутренней ротации. Лабораторные показатели без особенностей. При рентгенологическом исследовании на начальных стадиях заболевания отмечается неравномерное затемнение головки бедренной кости и отсутствие структурности костного рисунка. Реже может наблюдаться локальное сгущение рисунка. Остеосклероз и остеофиты отсутствуют, суставная щель не изменена, даже на поздней стадии, наоборот, может расширяться. Рано появляется сплющивание головки сверху вниз, высота ее снижается. Контуры головки неровные, напоминающие фасетки. В развернутую стадию головка разделена на изолированные отломки неправильной формы, разделенные более четко выраженными контурами. От туберкулезного коксита асептический некроз отличается отсутствием абсцессов и свищей. Как правило, не образуются анкилозы.

Инфекционные артриты другой этиологии в отличие от туберкулезного артрита характеризуются острым течением, внезапным началом, быстрым развитием сильных болей, ранним появлением нарушения функции сустава и мышечных контрактур. Выражены воспалитель-

Дифференциальная диагностика туберкулезного коксита и коксартроза

Характерные признаки заболевания	Туберкулезный коксит	Коксартроз
Возраст	<60 лет	>60 лет
Факторы риска развития	Остеоарткулярного туберкулеза	Остеоартроза
Течение	Медленное, постоянно и непрерывно прогрессирующее	Медленное, с периодами обострения и улучшения
Болевой синдром	Смешанный характер или воспалительный	Механический характер
Характер поражения	Асимметричный	Чаще симметричный, а также другая локализация
Лабораторные данные	Повышенные острофазовые пробы: СОЭ, СРБ	Норма
Общие признаки интоксикации	Присутствуют	Отсутствуют
Рентгенологические признаки	Локальная остеопения; кистозная перестройка кости; нет четких признаков артроза; секвестры в околосуставных тканях; патологические вывихи и переломы	Остеосклероз; остеофиты; сужение суставной щели; субхондральные кисты
Лечение	Нет эффекта от назначения нестероидных противовоспалительных препаратов или эффект незначительный	Хороший эффект от назначения нестероидных противовоспалительных препаратов и разгрузки сустава, особенно на ранних стадиях

ные изменения крови. Лихорадка и интоксикационный синдром проявляются резко. Объективный осмотр выявляет значительное ограничение функции сустава. Рентгенологически на раннем этапе диагноз поставить невозможно. Деструктивные изменения могут определяться через 14—20 сут как очаги просветления с неровными контурами. Параллельно деструкции идет процесс костной пролиферации, остеосклероз и гиперостоз.

Моноартрит тазобедренного сустава при хронических воспалительных заболеваниях чаще всего встречается при серонегативных спондилоартритах.

В настоящее время реактивные артриты часто протекают в виде моноартрита, в том числе и коксартрита. Диагностировать патологию помогает подробный анамнез (признаки гастроэнтероколита или урогенитальной инфекции), тщательный физикальный осмотр, позволяющий кроме артрита выявить поражения глаз, кожные высыпания разнообразного характера, энтезопатии и энтезиты, спондилит, сакроилеит. Реактивные артриты всегда требуют исключения туберкулезного процесса и подтверждения присутствия энтероколитической или урогенитальной инфекции. Рентгенологические изменения длительное время могут отсутствовать.

Анкилозирующий спондилит, поражающий в основном мужчин молодого и среднего возраста, встречается реже других спондилоартритов и может дебютировать в виде моноартрита тазобедренного сустава. Боли имеют воспалительный характер, отмечается общий интоксикационный синдром, сопровождающийся субфебрилитетом, похудание. Повышены острофазовые показатели: СОЭ и С-реактивный белок. Динамическое наблюдение позволяет выявить типичные клинические (ограничение подвижности всех отделов позвоночника) и характерные рентгенологические признаки поражения позвоночника (синдесмофиты, сакроилеит).

Диагностика псориазического коксита может быть затруднена отсутствием кожного псориаза. Уточнение семейного диагноза, динамическое наблюдение и присоединение артрита других суставов помогают заподозрить данное заболевание.

Лайм-боррелиозный артрит тазобедренного сустава также следует рассматривать с точки зрения дифференциальной диагностики. Имеет значение сезонность заболевания и выявление нарастающего титра специфических антител.

Для ревматоидного артрита асимметричный коксит менее характерен.

Саркома или метастазы злокачественных опухолей в костях суставов в части случаев могут быть похожи на туберкулезный процесс. В кости метастазируют опухоли почки, щитовидной, молочной и предстательной желез. Такие поражения характеризуются коротким анамнезом, сильными, постоянно нарастающими болями. Рентгенологически отмечаются частая локализация в метадиафизе костей, однополосная деструкция с нечеткими контурами, всегда имеется периостальный «козырек» и мягкотканый компонент.

Несмотря на относительную редкость и отсутствие четких отличительных признаков и симптомов, туберкулезный коксит всегда следует рассматривать с точки зрения дифференциальной диагностики асимметричных коксопатий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Соколов Н. И., Евлашкин Д. В., Каржавина Г. И. // Пробл. туберкулеза.— 2006.— № 7.— С. 37—41.
2. Bukharie H., Al-Rubaish A., Al-Zahrani A. // Southeast. Asian J. Trop. Med. Public Health.— 2009.— Vol. 40, № 4.— P. 770—775.
3. Erdem H., Baylan O., Simsek I. // Jpn J. Infect. Dis.— 2005.— Vol. 58, № 6.— P. 373—375.
4. Sauer B., Hofmann G., Tiemann A. // Z. Orthop. Unfall.— 2009.— Bd 147, № 6.— S. 734—739.
5. Shams F., Asnis D., Lombardi C. // J. Foot Ankle Surg.— 2009.— Vol. 48, № 4.— P. 452—456.
6. Сердобинцев М. С., Бердес А. И., Кафтырев А. С. и др. // Пробл. туберкулеза.— 2008.— № 12.— С. 54—57.

Поступила 20.06.11.

TUBERCULOUS COXITIS DIFFERENTIAL DIAGNOSIS

E. A. Mikhnevich, N. I. Artishevskaya, N. A. Krutchina

A classic case of tuberculous coxitis is presented. Difficulties of early diagnosis of this disease are stressed. Tuberculous coxitis has been differentiated from coxopathies of other etiologies occurred often in the clinical practice. Particular attention has been paid to coxarthrosis. As tuberculous coxitis can lead to severe outcomes the diagnosis should be considered every time a coxofemoral joint is damaged unilaterally.

Key words: tuberculous coxitis, differential diagnosis, coxarthrosis, coxopathies.

Адрес для корреспонденции:

Михневич Элеонора Анатольевна.
Белорусский государственный медицинский университет.
220096, г. Минск, ул. Уборевича, 73; сл. тел. (8-017) 340-42-43.



Человечество одержало победу над многими болезнями благодаря целенаправленному международному сотрудничеству. Вследствие координации действий Министерства здравоохранения Беларуси и Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в республике давно не регистрируются случаи полиомиелита, снизилась заболеваемость корью, краснухой, дифтерией, претворяются в жизнь программы по борьбе с ВИЧ/СПИДом и туберкулезом, по планированию и подготовке кадров для здравоохранения, совершенствованию первичной медико-санитарной помощи и др.

Мы открываем рубрику «Новости ВОЗ в Беларуси», из которой вы узнаете о деятельности этой организации в нашей республике, познакомитесь с передовым международным опытом в практике здравоохранения, с работой миссий ВОЗ и мнением экспертов о современных тенденциях развития медицины.

ВИНКЕ БУРМА: «Я ВИЖУ ЗАИНТЕРЕСОВАННОСТЬ И ЭНТУЗИАЗМ ЛЮДЕЙ В БЕЛАРУСИ»

Несмотря на то что процесс реформирования здравоохранения зачастую зависит от политических аргументов, финансовых возможностей государства, руководители, вырабатывающие политику развития системы, желают располагать данными, характеризующими прогресс, дабы повысить доступность и качество оказания медицинских услуг. В таком случае помощь экспертов ВОЗ по первичной медико-санитарной помощи оказалась как нельзя кстати.

Так, в 2009 г. опубликован отчет «Оценка моделей организации первичной медико-санитарной помощи в Беларуси», где представлен обзорный анализ сильных и слабых сторон белорусской модели. Один из авторов этого документа Винке Бурма (Нидерланды) во время рабочего визита совместной миссии ВОЗ экспертов по первичной медико-санитарной помощи в Беларусь посетил редакцию журнала «Здравоохранение» и в ходе интервью ответил на ряд вопросов.

— Начиная с 1990-х годов, система первичной медико-санитарной помощи в Беларуси активно развивалась, в ее основу была положена программа обучения врачей общей практики Западной Европы. Сегодня белорусскую модель первичной медико-санитарной помощи можно охарактеризовать как комплексную, доступную, координированную и интегрированную. Все функции системы здравоохранения, изложенные в схеме ВОЗ, учитываются для улучшения ее функционирования в целом: финансирование, оказание услуг, персонал, ресурсы.

Нужно оговориться, что передо мной стояла задача не только оценить организацию первичной медико-санитарной помощи, но и предложить меры, направленные на повышение отзывчивости белорусской системы здравоохранения, рациональности и эффективности. Отзывчивость предполагает максимальное удовлетворение потребностей населения, рациональность и эффективность — исключение ситуаций, когда медицинские услуги дублируют друг друга.

Понятно, что существуют определенные барьеры и трудности, но видно доброжелательное отношение руководителей Министерства здравоохранения Республики Беларусь и представителей местной власти, желание и готовность к диалогу. За один день невозможно преобразовать уже существующую модель, так как это длительный процесс, но я вижу заинтересованность людей, энтузиазм.

— **Какие проблемы характерны для белорусской модели? На что в первую очередь необходимо обратить внимание?**

— Одна из проблем первичной медико-санитарной помощи в Беларуси — высокая специализированность. Сосредоточившись на отдельных узких моментах, вы не видите картины в целом. Один из основных пунктов — координация. Если пациент изначально обращается за медицинской помощью к узкому специалисту, очень трудно контролировать потоки больных. В такой ситуации врач общей практики может помочь: зная состояние здоровья человека, он способен лучше скоординировать оказание медицинской помощи в необходимом объеме и в последующем иметь всю медицинскую информацию о своих пациентах.

Да, за счет внедрения врачей общей практики система оказания медицинской помощи, особенно на селе, значительно улучшилась. Но будем честны, сельская амбулатория — не самое привлекательное место для специалистов. Думаю, это представляет наибольшую сложность в условиях дефицита врачей. Остро стоит вопрос профессиональной изоляции, преодолев которую можно достичь хороших результатов.



Ю. К. Абаев, В. Де Вилл, В. Бурма, В. З. Русович

В первую очередь, можно посоветовать использовать возможность обучения на расстоянии (в частности, посредством интернета). Одним словом, инновации в системе здравоохранения должны идти от удаленных районов к центру, но не наоборот, когда в городах широко развита инфраструктура, а районы остаются неохваченными. Оснащение современным оборудованием, внедрение инновационных технологий в области медицины, достойная оплата труда — набор, способный мотивировать врача работать на районе. Тогда и результаты будут.

— Какую роль вы отводите медицинской сестре в процессе развития первичной медико-санитарной помощи?

— Под общей врачебной практикой я подразумеваю всю бригаду специалистов: врач, медсестра, фельдшер, акушер, а также представители смежных профессий. Считаю, что врачи до сих пор выполняют задачи, которые можно делегировать медицинским сестрам или вообще представителям немедицинских специальностей. Если сложить некоторые полномочия, то в разы повысится эффективность и рациональность оказания медицинской помощи.

В ближайшем будущем будет расти число людей с хроническими заболеваниями — это объективная реальность, учитывая снижение рождаемости. В такой ситуации медицинская сестра может регулярно вести осмотр лиц с хроническими заболеваниями, а в случае необходимости — передать пациента врачу. Такая система будет дееспособной при наличии работающих клинических протоколов, в которых должно быть четко регламентировано, что медсестра может делать самостоятельно. Это напоминает небольшую революцию, переворот в сознании медицинской обществу.

Переложив на «немедиков» административные функции, использовать простые формы медицинской отчетности и документации (исключить дублирование), можно облегчить жизнь медицинским сестрам, поскольку главная их задача — сестринское дело, работать с пациентами, а не заниматься оформлением бумаг. Можно расширить функциональные обязанности средних медработников в области охраны репродуктивного здоровья. Они являются специалистами, имеющими хорошую подготовку, и могут самостоятельно принимать женщин, которым не требуется медицинский осмотр, консультировать по вопросам применения противозачаточных средств, выписывать справки и т. д.

Следует пересмотреть отношения «врач—пациент» (последние недостаточно осведомлены о собственной ответственности за состояние своего здоровья, полагаются на медицинских работников), требуется не контроль, а сотрудничество. Сегодня во многих зарубежных странах придерживаются такой позиции, что врач не должен выступать в качестве «полицейского»: мы пытаемся разделить функции контроля и лечения. Если человек болеет, ему нужна медицинская помощь, что это ничего общего не имеет с оформлением больничного листка. Врач не должен выполнять функцию проверяющего. Выдача больничных листов становится серьезным бременем для системы оказания медицин-

ской помощи, а задача здравоохранения — реагировать на потребности людей.

Если руководству Министерства здравоохранения Беларуси удастся изменить ситуацию, вы увидите, что первичная медико-санитарная помощь станет более привлекательной как для врачей, так и для медицинских сестер. Подготовленная бригада специалистов, оснащенная хорошим оборудованием, — залог высокого качества оказания медицинских услуг и удовлетворенности населения их уровнем.

— Назовите составляющие полноценной модели первичной медико-санитарной помощи.

— В первую очередь, важна заинтересованность медиков в обучении. Глядя на учебный план подготовки врачей общей практики Беларуси, могу констатировать, что люди активно работают, перенимают прогрессивный зарубежный и отечественный опыт. В то же время в академическом мире в Беларуси наблюдается некоторый консерватизм, сопротивление признать семейную медицину и общую врачебную практику одной из образовательных дисциплин. Этот факт объясняет отсутствие в Беларуси профессоров и научной школы, изучающей вопросы, связанные с общей врачебной практикой и семейной медициной. Нужны сильные личности, обладающие стратегическим видением, чтобы данное направление получило научное развитие, укреплять международные связи. Видна положительная динамика: если 20 лет назад в Беларуси не было врачей общей практики, то сегодня все больше руководителей понимают перспективность этого направления. Только вот академическое сообщество в Беларуси пока несколько отстает в отношении общей врачебной практики.

— В докладе вы отдельно остановились на вопросах, касающихся заболеваемости туберкулезом и системы репродуктивного здоровья...

— Это своеобразные индикаторы функционирования системы здравоохранения и развития первичной медико-санитарной помощи в частности. Для эффективной противотуберкулезной помощи следует обеспечить тесный врачебный контроль по месту жительства — это прямая задача первичной медико-санитарной службы. С удовольствием замечу, что медицинская противотуберкулезная помощь организована намного лучше.

Планируется публикация доклада, где будут представлены отчеты 8—10 стран (оценку системы первичной медико-санитарной помощи эксперты ВОЗ проводили в Молдове, Украине, Словакии, Румынии и др.) с подробным анализом, какие проблемы актуальны в государствах с переходной экономикой. Многочему можно будет поучиться. Главное, помнить, что система здравоохранения — это еще и отражение культурных и исторических событий государства, нет смысла слепо копировать чью-то модель. В Беларуси, на мой взгляд, есть главное преимущество — возможность работать в бригадах или группах; в условиях частного здравоохранения медицинская помощь оказалась фрагментированной.

Беседовала Т. Ясевич

ГАЛИНА ПЕРФИЛЬЕВА: «ЗАКРУЖИЛА МИР КАРУСЕЛЬ МИГРАЦИИ»

Согласно расчетам экономистов Европейского Союза (ЕС) при нынешней ситуации и бездействии политиков к 2020 г. дефицит профессиональных кадров здравоохранения в странах ЕС (27 государств) будет составлять порядка 1 млн человек. Некоторые страны не питают иллюзий и уже сегодня заявляют, что, учитывая демографическую ситуацию, не способны решить эту проблему самостоятельно, поскольку не в силах удовлетворить предполагаемую потребность в кадрах собственными ресурсами. Какие политические решения направлены изменить кадровый вопрос, рассказала в интервью руководитель программы по кадровым ресурсам здравоохранения Европейского регионального бюро ВОЗ доктор Галина Перфильева.

— Еще в 2004 г. на Всемирной ассамблее здравоохранения государства высказали серьезную обеспокоенность по поводу неконтролируемой профессиональной миграции и оттока специалистов из развивающихся стран в развитые, что может привести к развалу систем здравоохранения. ВОЗ совместно с Международной организацией по миграции, Международной организацией труда занялись разработкой Глобального кодекса ВОЗ по практике международного найма персонала здравоохранения в государствах Европейского региона. В 2006 г. опубликован аналитический отчет специалистов ВОЗ с подробным анализом ситуации с кадрами в системе здравоохранения в мире (глобальный дефицит составлял свыше 4 млн медицинских работников, из них около 2 млн — профессиональные кадры здравоохранения). Представлены государства, которые находятся в коллапсе из-за критического дефицита кадровых ресурсов, страны, где наблюдается отток высококвалифицированных специалистов.

В 2006 г. на заседании, посвященном вопросам кадровых ресурсов, ВОЗ определила стратегический план действий на страновом и региональном уровнях. Глобальная стратегия «Цели тысячелетия» направлена на политическую солидарность стран. В ситуации, когда регистрируется низкая рождаемость и увеличивается продолжительность жизни, процветает экономическое неравенство, отличаются условия и доступ к медицинской помощи, особенно остро чувствуется дефицит профессиональных кадров здравоохранения.

— **Какие типичные проблемы характерны для большинства стран Европейского региона?**

— Назову три основные: дисбаланс кадровых ресурсов (как в отдельных государствах, так и внутри страны, между сельским и городским населением); дисбаланс между специальностями (при всех позитивных тенденциях развития и укрепления уровня первичной медико-санитарной помощи отмечаем рост числа узких специалистов вместо врачей общей практики, что сделало бы более доступной медицинскую

помощь населению); миграция (неуправляемая и неконтролируемая).

Существуют понятия «карусель миграции» или «миграция маятника», когда, к примеру, из Молдовы врачебные кадры едут в Румынию, из Румынии отток специалистов идет во Францию, Италию, Германию, оттуда — в Великобританию, из Англии — в США, Канаду, Новую Зеландию и Австралию. Таким образом, государства, замыкающие эту цепочку, получают уже высококвалифицированных специалистов, поэтому, понятно, не совсем заинтересованы в инвестировании денег в подготовку собственных кадров.

— **Можно ли рассчитывать на честную игру?**

— В последние 3 года Еврокомиссия профинансировала 3 крупных проекта, чтобы получить наиболее достоверную информацию по количеству мигрантов. Существует регистрируемая миграция, но есть и ее огромная скрытая часть. Например, на улицах Италии, Бельгии можно увидеть представителей азиатской или славянской внешности, осуществляющих индивидуальный уход за инвалидами, детьми-инвалидами и пожилыми людьми. Многие имеют медицинское, сестринское образование, работают сиделками в чужой стране, но нигде не зарегистрированы. Скрытая миграция в Италии персонала по уходу составляет от 500 тыс. до 1 млн человек. Мы — за прозрачность. Когда люди покидают страну, проследить отток кадров очень сложно, но такая информация должна быть в стране-«получателе».

— **Знаю, что в ходе разработки Этического кодекса по международному найму велась очень сложные переговоры, дебаты на самом высоком уровне... Каких успехов достигли за это время?**

— Учитывая демографическую ситуацию в странах ЕС, государства сегодня находятся в условиях некой состязательности за профессиональные кадры здравоохранения. Несмотря на так называемую этическую предрасположенность на государственном уровне, используются все возможные методы и приемы (я имею в виду частные агентства, занимающиеся наймом и рекрутированием специалистов). Нужна консолидация наших усилий на страновом уровне. Все заинтересованные (министерства здравоохранения, профессиональные ассоциации, частные компании или агентства) должны соблюдать нормы и правила. После сложной долгой процедуры договоренности в мае 2010 г. на заседании Всемирной Ассамблеи здравоохранения был принят Этический кодекс. В 2011 г. вновь вернулись к этому вопросу, активизировали работу.

Этический кодекс затрагивает и пропагандирует этические принципы международного найма и все вопросы, связанные с кадровыми ресурсами, содержит намного больший перечень проблем. Документ направлен на разработку стратегий и планов, создание устойчивых систем здравоохранения, что предполагает инвестиции денежных средств в подготовку кадров, нацелен на рациональное использование специалистов, разумное соотношение сестринского и врачебного персонала, врачей общей практики и уз-

ких специалистов, предполагает улучшение информационных систем, создание надежных статистических баз данных по медицинским кадрам.

— **На мой взгляд, вы затронули большое место — статистику.**

— К сожалению, в Европе единичные государства имеют достоверную статистику по кадрам. В Беларуси ее тоже нет — не существует общих единых профессиональных персонифицированных реестров. Статистика Министерства здравоохранения и медицинских ассоциаций отличается от данных Государственного комитета статистики Республики Беларусь. Экономисты предрекают дефицит медицинских кадров в Европе. Верен ли этот расчет, какие действия срочно необходимо предпринять, чтобы сократить дефицит, можно сказать, если будет достоверная статистика.

Работая с миссией ВОЗ по приглашению Министерства здравоохранения, отмечу, что в Беларуси за последние 2 года сделаны серьезные шаги. Республика приняла участие в пилотном проекте по базе данных кадрового ресурса (это совместная база данных Евростата (государства Европейского Союза), Организации экономического сотрудничества и развития (экономически развитые страны) и Европейского региона ВОЗ). После долгих обсуждений мы перешли на общий вопросник по кадрам, определили единые индикаторы и дефиниции. Исключив врачей-преподавателей, врачей, занимающихся научными исследованиями, организаторов здравоохранения из категории практикующих врачей, в итоге вышли на сопоставимые показатели (в среднем в Европе обеспеченность составляет порядка 320 врачей на 100 тыс. населения). В Беларуси до пилотного проекта этот показатель был равен 520, но после пересчета в соответствии с принятыми общими дефинициями вышли на 370.

Сегодня идет разработка профессионального реестра по кадрам, исключая дублирование подсчетов. Это позволит ввести единый классификатор, существующий в Международной организации труда.

В последнее время Беларусь принимает активное участие в межстрановых тренингах по вопросам стратегического планирования кадровых ресурсов (организованы ВОЗ совместно с Гарвардской школой общественного здоровья), в совещаниях стран СНГ по практике и политике сохранения и закрепления кадров (один из ключевых принципов этического кодекса: государства должны инвестировать финансовые средства, разрабатывать стратегии и политику, которые позволяют сохранить собственные кадры). Участвуя в подобных программах, Беларусь имеет возможность узнавать, какая практика эффективно применяется в странах СНГ. Обмен опытом и взаимопонимание помогают принимать конструктивные решения.

— **Какие узкие места вы отметили в процессе работы на семинаре?**

— Беларусь — одна из немногих стран на постсоветском пространстве, сохранившая систему доступ-

ности медицинской помощи. Еще много вопросов остается, над которыми следует работать. Нерациональное использование рабочего времени врача: многие несвойственные функции можно передать медицинской сестре. Система подготовки специалистов требует обновления. Сотрудники Минздрава Республики Беларусь и ведущих медицинских вузов встречались с президентами Всемирной федерации медицинского образования и Европейской ассоциации медицинских школ по вопросам качества подготовки, аккредитации. ВОЗ разработала и внедрила на глобальном уровне стандарты качества, которые используются на до- и последипломном уровне системы непрерывного профессионального образования и системы аккредитации. Думаю, заинтересованность руководства Минздрава позволит перейти на стандарты ВОЗ, чтобы приблизиться к уровню качества подготовки стран ЕС.

С помощью специалистов ВОЗ (существуют инструменты для расчета потребности штатов для учреждений здравоохранения с учетом нагрузки) Министерство здравоохранения сможет смоделировать различные варианты штатного расписания, посмотреть, как это отразится на бюджете, начиная с небольшого учреждения, амбулатории или районной больницы, отделения, стационара и переходя на более крупные учреждения. Но первоочередная задача — перераспределить функции, которые должны выполнять врачи и медицинские сестры.

— **Можно ли рассчитывать на сотрудничество Беларуси и экспертов ВОЗ в ближайшем будущем?**

— Этический кодекс предусматривает некоторые обязательства, в частности в резолюции Всемирной ассамблеи здравоохранения предусмотрена отчетность стран по выполнению, каждое государство должно назначить организацию, которая будет осуществлять мониторинг за решениями и внедрением глобального кодекса. Раз в 2 года все страны будут подавать по установленной форме отчеты, которые будут размещены в интернете, в мае 2013 г. генеральный директор ВОЗ подытожит результаты.

Действия Беларуси логичны, последовательны, вопросы решаются системно (статистика, профессиональный реестр, база данных, переход на единые индикаторы, заинтересованность в вопросах планирования, прогнозирования кадров). Но обоснованные решения Минздрава должны основываться на фактических данных и результатах научных исследований (ученым следует активизировать свои работы по данной тематике).

Определен план совместных работ Министерства здравоохранения Республики Беларусь и экспертов Европейского регионального бюро ВОЗ на ближайшие 2 года, который включает вопросы, касающиеся кадровых ресурсов, создания базы данных, профессионального реестра и повышения уровня образования.

Беседовала Т. Ясевич



Отвечает главный правовой инспектор труда Республиканского комитета Белорусского профсоюза работников здравоохранения А. П. Липовка.

• Какие дополнительные гарантии предусмотрены женщине, имеющей ребенка-инвалида в возрасте до 18 лет?

— Согласно ч. 1 ст. 265 Трудового кодекса Республики Беларусь женщине, воспитывающей ребенка-инвалида в возрасте до 18 лет, по заявлению ежемесячно предоставляется один свободный от работы день с оплатой в размере среднего дневного заработка за счет средств государственного социального страхования.

В силу требований ч. 3 ст. 263, ч. 1 ст. 147 Трудового кодекса Республики Беларусь женщину, имеющую ребенка-инвалида в возрасте до 18 лет, привлекать к ночным, сверхурочным работам, в государственные праздники, праздничные и выходные дни, направлять в служебную командировку можно только с ее письменного согласия.

Данная категория работников имеет также гарантии на получение кратковременного отпуска без сохранения заработной платы. Согласно нормам ст. 189 Трудового кодекса Республики Беларусь женщине, имеющей ребенка-инвалида в возрасте до 18 лет, наниматель обязан предоставлять по ее желанию кратковременный (продолжительностью до 14 календарных дней) отпуск без сохранения заработной платы (период согласовывают между работницей и нанимателем).

Следует напомнить, что основной и дополнительный трудовой отпуск за первый рабочий год предоставляют не ранее чем через 6 мес со дня приема на работу. До истечения этого времени наниматель обязан предоставить трудовой отпуск женщинам, имеющим ребенка-инвалида в возрасте до 18 лет.

Важно обратить внимание на то, что при составлении графика трудовых отпусков наниматель обязан запланировать таковой по желанию работницы, имеющей ребенка-инвалида в возрасте до 18 лет, в летнее или другое удобное время (ст. 168 Трудового кодекса Республики Беларусь).

Дополнительные льготы и гарантии для данной категории работников могут быть также предусмотрены коллективным договором (соглашением).

• Обязан ли наниматель предоставить работнику весь трудовой отпуск до истечения срока контракта?

— В ситуации, когда работник увольняется на основании п. 2 ст. 35 Трудового кодекса Республики Беларусь (истечение срока трудового договора), отпуск с последующим увольнением предоставляется в пределах срока трудового договора (ч. 2 ст. 178 Трудового кодекса Республики Беларусь).

Наниматель вправе предоставить работнику часть трудового отпуска, неиспользованная часть подлежит денежной компенсации (ст. 179 Трудового кодекса Республики Беларусь).

Согласно п. 6 ч. 1 ст. 171 Трудового кодекса Республики Беларусь трудовой отпуск может быть перенесен на более ранний срок при согласии как работника, так и нанимателя. Таким образом, наниматель вправе, но не обязан удовлетворить просьбу работника о переносе трудового отпуска на более раннее время.

• Имеет ли право человек, принятый на работу на период отпуска за ребенком до достижения им возраста 3 лет основной работницы, уволиться по собственному желанию?

— В соответствии с п. 4 ст. 17 Трудового кодекса Республики Беларусь трудовой договор, заключенный на время выполнения обязанностей временно отсутствующего работника, за которым сохраняется рабочее место, является разновидностью срочного трудового договора (к нему относится и договор, заключенный на период отпуска по уходу за ребенком до достижения им возраста 3 лет). В течение срока действия такого договора увольнение по собственному желанию невозможно, поскольку по желанию работника может прекращаться только трудовой договор, заключенный на неопределенный срок (ст. 40 Трудового кодекса Республики Беларусь).

• Может ли наниматель уволить работника, находящегося в трудовом отпуске, если истечение срока действия контракта приходится на предпоследний день отпуска. Правомерны ли такие действия?

— По истечении срока контракта наниматель вправе прекратить трудовые отношения с работником без указания каких-либо дополнительных причин. Увольнение проводится согласно п. 2 ч. 2 ст. 35 Трудового кодекса Республики Беларусь (истечение срока трудового договора), о чем издается приказ и вносится запись в трудовую книжку. При этом трудовые отношения могут быть прекращены и во время нахождения работника на больничном, в трудовом или социальном отпуске. Гарантии о недопустимости увольнения в период временной нетрудоспособности или нахождения в отпуске, предусмотренные законом при увольнении по инициативе нанимателя (ст. 43 Трудового кодекса Республики Беларусь), в данном случае не действуют, поскольку увольнение в связи с истечением срока контракта не является прекращением трудовых отношений по инициативе нанимателя.

• Работник обратился к нанимателю с заявлением о предоставлении отгула (систематически выполнял сверхурочные работы) и в указанный в заявлении день не вышел на работу. Наниматель оформил отсутствие подчиненного как прогул с последующим увольнением. Правомерны ли такие действия?

— Действия нанимателя правомерны. В соответствии со ст. 69, 146 Трудового кодекса Республики Беларусь отгул (другой день отдыха за сверхурочную работу, работу в выходной или праздничный дни) предоставляется по договоренности между нанимателем и работником. Поскольку законодательством не урегулированы порядок и сроки предоставления отгулов, наниматель вправе предусмотреть данный вопрос в локальном нормативном правовом акте организации.

Работнику следовало подать заявление на имя нанимателя, указав дату и время, когда он выполнял сверхурочную работу, и дату, когда просит предоставить отгул. Он не вправе оставлять рабочее место самовольно до принятия нанимателем положительного решения по заявлению (приказ о предоставлении отгула).

Согласно ч. 2 п. 34 постановления Пленума Верховного Суда Республики Беларусь № 2 от 29.03.2001

«О некоторых вопросах применения судами законодательства о труде» самовольное использование работником отгулов, а также самовольный уход в отпуск (трудовой, социальный) является прогулом.

• Является ли несоблюдение срока уведомления работника об увольнении (истек срок контракта) основанием для восстановления на работе?

— Основанием увольнения по п. 2 ст. 35 Трудового кодекса Республики Беларусь является факт истечения срока действия контракта, при наступлении которого каждая из сторон трудовых отношений вправе их прекратить, причем действующим законодательством не предусмотрена обязанность нанимателя сообщать работнику свои мотивы.

В соответствии с п. 1.1 Указа Президента Республики Беларусь № 180 от 12.04.2000 «О порядке применения норм Декрета Президента Республики Беларусь от 26.07.1999 г. № 29» каждая из сторон, заключивших контракт не позднее чем за 1 мес до истечения срока его действия, письменно предупреждает другую сторону о решении продолжить или прекратить трудовые отношения.

Вместе с тем п. 12 постановления Пленума Верховного Суда Республики Беларусь № 4 от 26.06.2008 «О практике рассмотрения судами трудовых споров, связанных с контрактной формой найма работников» (с последующими изменениями) установлено, что несоблюдение данного условия нанимателем может признаваться судом как нарушение установленного порядка увольнения. Оно не влечет восстановления на работе, но может являться основанием для вынесения судом решения о возмещении морального вреда (ст. 246 Трудового кодекса Республики Беларусь), если такое требование заявлено.

Отвечает зав. отделом социально-экономической работы Республиканского комитета Белорусского профсоюза работников здравоохранения Н. И. Купрейчик.

• Молодой специалист, направленный в организацию здравоохранения, являлся стипендиатом фонда Президента Республики Беларусь и состоит в банке данных одаренной молодежи. Какая доплата должна производиться?

— В соответствии с Указом Президента Республики Беларусь № 273 от 14.06.2007 «О повышении заработной платы отдельным категориям молодых специалистов» (в редакции Указа Президента Республики Беларусь № 199 от 26.04.2010) молодым специалистам с высшим образованием, включенным в банки данных одаренной и талантливой молодежи и принятым на работу в организации, финансируемые из бюджета, производится повышение тарифного оклада на 50%.

При отсутствии у молодого специалиста удостоверяющего документа о том, что он включен в банки данных одаренной и талантливой молодежи, организация, в которую направлен на работу, может обратиться в Министерство образования Республики Беларусь за подтверждением этого факта.

• Молодого специалиста лишили надбавки на 15% и премии на 100% за несвоевременное оформление документации. Правомочно ли такое решение администрации?

— Надбавка за высокие творческие, производственные достижения в работе, сложность и напряженность

труда, а также за выполнение особо важных (срочных) работ в размере до 50% оклада устанавливается руководителем согласно п. 2.8 приложения 1 к постановлению Министерства труда Республики Беларусь № 6 от 21.01.2000 «О мерах по совершенствованию условий оплаты труда работников бюджетных организаций и иных организаций, получающих субсидии, работники которых приравнены по оплате труда к работникам бюджетных организаций» (с последующими дополнениями и изменениями).

Размеры надбавок устанавливаются в зависимости от личного вклада работника в повышение эффективности проводимых мероприятий, выполняемых работ. Указанные надбавки уменьшаются либо отменяются при снижении качества работы. Данный нормативный акт не содержит норм, регулирующих особые условия установления надбавок для молодых специалистов.

В соответствии с приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 299 от 27.11.1999 «О порядке выплаты премии и оказания материальной помощи работникам учреждений здравоохранения системы Минздрава Республики Беларусь» премирование в организациях здравоохранения проводится в соответствии с Положением о премировании, которое принимается в каждой организации и является приложением к коллективному договору. В Положении о премировании должны содержаться критерии снижения и увеличения размеров премии в зависимости от результатов работы.

Как правило, премирование молодых специалистов осуществляется на тех же условиях, что и премирование остальных работников.

Решение о снижении размеров премии в соответствии с действующим Положением о премировании принимается комиссией по премированию. Нарушения выполнения должностных обязанностей, которые могут быть причиной для снижения размеров премии, должны отражаться в протоколах.

При несогласии с решением комиссии по премированию по вопросу снижения размеров премии молодой специалист может обратиться в комиссию по трудовым спорам организации.

• Врач принят на работу в порядке перевода и тут же направлен на курсы переподготовки на 4 мес. Как в данном случае исчисляются среднемесячную заработную плату, которая сохраняется на время курсов повышения квалификации и переподготовки?

— В соответствии с Инструкцией о порядке исчисления среднего заработка, утвержденной постановлением Министерства труда Республики Беларусь № 47 от 10.04.2000, сохраняемый работнику средний заработок за время нахождения на курсах переподготовки исчисляется, исходя из заработной платы, начисленной за 2 предшествующих календарных месяца работы.

В случае если работник не отработал ни одного рабочего дня до направления его на переподготовку, сохранение среднего заработка за все время его нахождения на курсах должно производиться из оклада, сформированного в соответствии с действующими условиями оплаты труда по должности, на которую принят специалист, и предусмотренного в трудовом договоре (контракте).

Мудрые мысли знаменитых врачей



Христоф Вильгельм Гуфеланд (1762—1836)

♦ В болезнях хронических особенно приучайте себя к великому терпению и умеете надеяться на время; ибо есть известные хронические болезни, которые можно исцелять только в известное время, а не в другое. Было бы не только тщетно, но вредно мучить больного.

♦ В начале моей практики я написал в моей памятной книжке следующее: «Облегчать страдания людей, вкушать неизъяснимое счастье быть на земле их утешителем, помощником, утолителем тягостей жизни! Вот чистое мое желание, вот пламенная моя молитва...»

♦ В неотложной опасности, для спасения больного, жертвуйте всем, даже репутацией вашей.

♦ Взгляд наш слишком ограничен, малосилен, нам не дано утвердительно знать, сметь думать, что мы никак не ошибаемся, что никакой надежды к спасению нет. Я признаю в высшей степени важным правилом: не терять надежды никогда, не ослаблять никогда усилий. Надежда внушает светлые мысли, открывает уму новые средства, и может даже сделать совершимым то, что казалось невозможным. Кто не надеется более, не может и мыслить, он впадает в апатию, и больной его необходимо должен погибнуть, потому что призванный к спасению сам уже так же «умер».

♦ Врач, не взирающий на искусство лечить как на служение Богу, необходимо должен признавать обязанности, занятия свои, свое существование, самым тяжким, самым неблагоприятным образом жизни на земле; он никогда не может найти в нем и тени какого-нибудь утешения, и непременно будет делать дело свое с великим безучастием и небрежением.

♦ Все, что нужно, делайте тотчас. Благоприятная минута не возвращается.

♦ Выше всего стоит свет, бесспорно, самый близкий друг и постоянный спутник жизни, и, конечно,

с этой точки зрения он имеет гораздо более существенное значение, чем обыкновенно полагают.

♦ Да не смотрит никогда медик на больного как на средство, а всегда как на цель; да не дерзнет он видеть в нем предмет, вещь для испытания в послугу науки или искусству, — но да видит в нем всегда человека.

♦ Ежедневная воздушная ванна — единственное средство добиться хорошего цвета лица, силы, красоты и энергии.

♦ Если вы не можете помочь — не вредите.

♦ Из всех телесных движений смех есть самое здоровое: он благоприятствует пищеварению, кровообращению, ободряет жизненную силу во всех органах.

♦ Лучшие пациенту умереть от болезни, нежели быть убитым вами.

♦ Медицинское искусство одно, потому что оно основано на вечных законах природы; но систем медицинских много. Иначе и быть не может. Системы зависят от преобладающих понятий и от состояния познаний, на которых понятия те утверждаются. Мы имели уже достаточное число систем для полнейшего убеждения в том, что не в них заключается врачебное искусство. История последнего тридцатилетия в особенности доказывает это с преизбытком. Каждую систему изобретатель ее считает единою приемлемою, верною, полезною, доколе новая система не опрокинет ее, на основании таких же будто бы свойств, и не воцарится на более или менее продолжительное владычество. Так будет до конца жизни человечества.

♦ Между влияниями, укорачивающими человеческую жизнь, преимущественное место занимают известные душевные настроения и привычки: мысли, уныние, страх, тоска, малодушие, зависть, ненависть.

♦ Нас преисполняет радости и утешения то, что несмотря на превратность систем и грубые заблуждения школ, все-таки известное число людей постоянно питают и хранят в своем сердце горячую любовь к искусству истинному.

♦ Не делайте ничего без разумно-осознанной причины. Лучше предоставить природе действовать одной, нежели колебать, нарушать ее форму действия чем-либо безвременно и иррационально.

♦ Не забывайте всегда настроить надлежащим образом диету и частности жизни больного.

♦ Не забывайте, что вы не излечиваете никогда, но сама природа излечивает болезни; вы только по-

мощники, вызывающие ее работу, охраняющие, направляющие ее и нередко содействующие ее возможной; но к несчастью, могущие очень часто помешать ей, противопоставлять ей необоримые преграды.

♦ Не проводить ни одного дня без того, чтобы не выйти из дому и не подышать чистым воздухом. Не должен смотреть на прогулку только как на движение, но и еще как на средство пользоваться чистым воздухом.

♦ Нередко природа, предоставленная сама себе, совершает улучшения и важные исцеления, или же изменяет неизлечимую болезнь в удобоизлечимую или производит кризис, раздражение, которое медик может употребить в пользу врачевания.

♦ Ни один лентяй не достиг глубокого возраста: все достижения его вели очень деятельный образ жизни.

♦ Огромное количество лечений было приведено к благоприятному окончанию преимущественно лишь удалением, отстранением всего вредного и содействовавшего поддержанию болезни. И наилучшее пользование может остаться безуспешным при отступлении от этого мудрого правила. Важность заключена не в количестве лишь, но и в качестве пищи; диету нужно изучать с особенной внимательностью.

♦ Опрятность и содержание тела в чистоте — суть два существенные обстоятельства для продолжительной жизни.

♦ Основной пункт искусства заключается в умении обнимать болезни во всевозможной общности и обширности их, и в изолировании, уединении, индивидуализировании, в той же манере больного.

♦ Помышляйте непрестанно о том, что Вы и в чем заключается обязанность Ваша? Бог сподобил вас драгоценного таланта и служения великого, в охранение священного огня жизни, в раздавание Его даров неоцененного здоровья и в знание и употребление таинственных сил, влитых Им в природу веществ для пользы человека. Обязанности священны и возвышенно важны! Исполняйте их в состоянии безукоризненно чистой совести, не для собственной выгоды, не для собственной славы, — но во славу Госпо-

да и во спасение братии. Знайте, что некогда вы непременно должны будете дать отчет о поведении вашем, об употреблении вверенного вам дела.

♦ Превыше всего не думайте никогда о себе, но только о больном.

♦ Самое возвышенное служение человека после священства, есть служение пользам охранения священного огня жизни, раздавания божественных даров и таинственных сил природы, — то есть ношения звания медика и честное исполнение его великих обязанностей.

♦ Сколь же преступны медики, которые, не уважая высокого призвания своего или наскучив его обязанностями, остаются простыми холодными зрителями страданий, небрегут больными или покидают их! Правда, есть случаи, в которых участие может угаснуть в сердце художника, но в сердце человека оно не только не может угаснуть, а должно еще возвышаться, усиливаться!

♦ Только лишь одно то, что совершается по воле Бога, может уделять человека утешениями и внутренним счастьем свыше всякой меры. Но как взирает ныне большинство врачей на искусство лечить? Они видят в нем дело, спекуляцию, средство к приобретению известного благосостояния, к скопленению денег, к получению почестей и лучшие из них вряд ли видят в нем что-либо кроме изучения природы.

♦ Труд, сопряженный с движением, есть самый полезный, наиболее сохраняющий здоровье и продолжающий жизнь.

♦ Уважайте всегда достоинство искусства, и ставьте других уважать его; не дерзайте смотреть на него как на ремесло, как на средство к достижению презренной цели.

♦ Цель лечения — восстановить нормальную деятельность организма путем ослабляющего или возбуждающего и укрепляющего методов лечения.

♦ Чем более мы желаем добра окружающим, чем более делаем других счастливыми, тем более сами бываем счастливы.

Подготовил В. С. Улащик

©“Здравоохранение”, 2012

Свидетельство о государственной регистрации № 562 от 20.07.2009 г.

Подписные индексы:

для организаций — 749122,

для индивидуальных подписчиков — 74912

Дизайн обложки: Сергей Саркисов

Редакция

Кривашей Н. А. (информация, реклама)

Гелжец Н. Ф. (верстка)

Здоровикова И. А., Лоскутова С. А., Чугай Е. В., Ясевич Т. В. (редакторы)

Подписано в печать 26.09.2012.

Формат 60x84 1/8. Офсетная печать.

Физ. печ. л. 10,0+1,0 печ. л. пр. Усл. печ. л. 9,3. Уч.-изд. л. 13,04

Тираж экз. Зак.

Адрес редакции: 220007, Минск, Фабрициуса, 28

Телефоны: 226-21-66, 226-21-48

E-mail: zdrav@tut.by

zdravmag@mailgov.by

С информацией “К сведению авторов” можно ознакомиться на сайте www.zdrav.by

Республиканское унитарное предприятие

“Издательство “Белорусский Дом печати”

ЛП №02330/0494179 от 03.04.2009.

Пр. Независимости, 79, 220013, Минск.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных объявлений. При использовании материалов журнала ссылка на “Здравоохранение” обязательна.