

ОАО «ИЗДАТЕЛЬСТВО
"МЕДИЦИНА"»

ЛР № 010215 от 29.04.97

Почтовый адрес

115088, Москва,
ул. Новоостاپовская,
д. 5, строение 14

WWW страница: www.medlit.ru

**Журнал зарегистрирован
в Ulrich's International
Periodicals Directory**

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ

Тел./факс +7 495 678-64-84

e-mail: oaо-meditsina@mail.ru

**Ответственность за достоверность
информации, содержащейся в
рекламных материалах, несут
рекламодатели**

Все права защищены. Ни одна
часть этого издания не может быть
занесена в память компьютера либо
воспроизведена любым способом
без предварительного письменного
разрешения издателя.

2-летний ИФ РИНЦ 0,503

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

**109029, г. Москва,
ул. Скотопрогонная, 29/1,
подъезд 15**

Зав. редакцией Н. Р. СОБОЛЬ

Тел. 8-499-678-65-94

e-mail: sobolrpj@bk.ru

Редактор *И. Ю. Крепких*

Художественный редактор

А. В. Минаичев

Технический редактор *Т. В. Нечаева*

Корректор *Л. В. Кузнецова*

Переводчик *Л. Д. Шакина*

Компьютерная верстка

Е. М. Архипова

Сдано в набор 16.04.2014

Подписано в печать 12.05.2014

Формат 60 × 88%

Печать офсетная

Печ. л. 8,00

Усл. печ. л. 7,84

Уч.-изд. л. 8,50

Заказ 103

**Индекс 72161 для индивидуальных
подписчиков**

**Индекс 72162 для предприятий
и организаций**

Подписной тираж номера 684 экз.

ISSN 1560-9529. Эпидемиол.
и инфекц. бол. 2014. № 2. 1-64

Отпечатано в типографии ООО
«Подольская Периодика»,
142110, г. Подольск, ул. Кирова, 15



МОСКВА

Эпидемиология и инфекционные болезни

Двухмесячный научно-практический журнал

Основан в 1996 г.

2 • 2014

МАРТ–АПРЕЛЬ

Главный редактор В. В. НИКИФОРОВ,
доктор мед. наук, проф.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

М.Г. АВДЕЕВА доктор мед. наук, проф., В. Б. БЕЛОБОРОДОВ
(заместитель главного редактора), доктор мед. наук, проф.,
Н. М. БЕЛЯЕВА доктор мед. наук, проф., А. М. БРОНШТЕЙН
доктор мед. наук, проф., А. М. БУТЕНКО доктор мед. наук, проф.,
Е. В. ВОЛЧКОВА доктор мед. наук, проф., В. М. ГЛИНЕНКО,
доктор мед. наук, А. В. ИВАНЕНКО доктор мед. наук,
А. И. МАЗУС доктор мед. наук, В. А. МАЛОВ доктор мед. наук,
проф., А. Ю. ПРОНИН канд. мед. наук, Т. В. СОЛОГУБ доктор
мед. наук, проф., Н. Н. ФИЛАТОВ доктор мед. наук, проф.,
Ю. Н. ХОМЯКОВ доктор биол. наук, О. В. ШАМШЕВА доктор
мед. наук, проф.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Н. Н. АЛИЕВ (Баку), В. А. АНОХИН (Казань), М. Д. АХМЕДОВА
(Ташкент), Н. Н. БЕСЕДНОВА (Владивосток),
Э. Ш. БОТСВАДЗЕ (Тбилиси), Г. Б. ГУКАСЯН (Ереван),
С. Г. ДРОЗДОВ (Москва), К. В. ЖДАНОВ (Санкт-Петербург),
А. Б. ЖЕБРУН (Санкт-Петербург), И. А. ЗАЙЦЕВА (Саратов),
В. В. ИВАНОВА (Санкт-Петербург), О. В. КОРОЧКИНА
(Нижний Новгород), В. В. ЛЕБЕДЕВ (Краснодар), Ю. В. ЛОБЗИН
(Санкт-Петербург), Ю. М. ЛОМОВ (Ростов-на-Дону),
Д. К. ЛЬВОВ (Москва), И. В. МАЛОВ (Иркутск),
Э. И. МУСАБАЕВ (Ташкент), Б. С. НАГОЕВ (Нальчик),
А. В. ПОПОВ (Владивосток), В. И. ПРИСАКАРЬ (Кишинев),
Х. К. РАФИЕВ (Душанбе), В.Х. ФАЗЫЛОВ (Казань),
В. К. ЯСТРЕБОВ (Омск)

Журнал "Эпидемиология и инфекционные болезни" включен в перечень
изданий, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ,
для публикации статей, содержащих материалы докторских диссертаций.

ISSN 1560-9529



9 771560 952009

Izdatel'stvo
Medizina

Epidemiology and infectious diseases

Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni

Bimonthly scientific practical journal
Published Since 1996

2 • 2014

MARCH–APRIL

Editor-in-chief V. V. NIKIFOROV

EDITORIAL BOARD:

M.G. AVDEEVA, V.B. BELOBORODOV (assistant editor in chief), N.M. BELYAEVA, A.M. BRONSHTEYN, A.M. BUTENKO, N.N. FILATOV, V.M. GLINENKO, A.V. IVANENKO, Yu. N. KHOMYAKOV, V.A. MALOV, A.I. MAZUS, A.Yu. PRONIN, O.V. SHAMSHEVA, T.V. SOLOGUB, E.V. VOLCHKOVA

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

N.N. ALIEV (Baku), V.A. ANOKHIN (Kazan), N.N. BESEDNOVA (Vladivostok), E.Sh. BOTSVADZE (Tbilisi), S.G. DROZDOV (Moscow), V.Kh. FAZYLOV (Kazan), G.B. GUKASYAN (Erevan), V.V. IVANOVA (Saint-Petersburg), O.V.KOROCHKINA (Nizny Novgorod), V.V. LEBEDEV (Krasnodar), Yu.V. LOBZIN (Saint-Petersburg), Yu. M. LOMOV (Rostov-na-Donu), D.K. L'VOV (Moscow), I.V. MALOV (Irkutsk), E.I. MUSABAEV (Tashkent), B.S. NAGOEV (Nalchik), A.V. POPOV (Vladivostok), V.I. PRISAKAR (Kishinev), Kh.K. RAFIEV (Dushanbe), I.A. ZAYATSEVA (Saratov), A.B. ZHEBRUN (Saint-Petersburg), K.V.ZHDANOV (Saint-Petersburg), V.K. YASTREBOV (Omsk)



MOSCOW

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

- Белобородов В.Б.** Некротизирующая пневмония, вызванная *Staphylococcus aureus* 4
- Гюлазян Н.М., Белая О.Ф., Малов В.А., Пак С.Г., Волчкова Е.В.** Липополисахариды/эндотоксины грамотрицательных бактерий: роль в развитии интоксикации 11

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Белая О.Ф., Зуевская С.Н., Паевская О.А., Юдина Ю.В., Волчкова Е.В., Пак С.Г.** Сезонные колебания маркеров *H. pylori* у больных острыми вирусными гепатитами 17
- Бутенко А.М., Козлова А.А., Ларичев В.Ф., Дзагурова Т.К., Пантюхова Р.А., Важненко Н.С., Карлова В.М., Василькова О.И.** Лихорадка Западного Нила в Тульской области 20
- Кульшань Т.А., Челдышова Н.Б., Гусева Н.П., Смирнова Н.И.** Сравнительный анализ участков генома, связанных с вирулентностью, у природных штаммов *Vibrio cholerae* классического и Эль Тор-биоваров 26
- Яковлев А.А., Котлярова С.И., Мусатов В.Б., Федуняк И.П., Карнаухов Е.В., Вашукова С.С., Иванова Е.Н.** Три эпидемических сезона гриппа 2009–2013 годов 33

ОБЗОРЫ

- Николаева Л.И., Лейбман Е.А., Сапронов Г.В., Юдин А.Н.** Цирроз печени и гепатоклеточная карцинома у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С: эпидемиологические и молекулярно-генетические аспекты. 40
- Авдеева М.Г., Лысенко И.В.** К вопросу о патогенезе анемии при хронической HCV-инфекции 52

В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ

- Азарян А.Р., Гришанова А.П., Иващенко Е.И., Шендо Г.Л., Ковтунов А.И., Неталиева С.Ж., Бабаева М.А., Буркин А.В., Аршба Т.Е., Ларичев В.Ф., Бутенко А.М.** Опыт применения ИФА тест-систем для серологической диагностики лихорадки Западного Нила. 59

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ

- Блохина Н.Н.** Становление противочумной службы дореволюционной России 62

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Beloborodov V. B.** Necrotizing pneumonia caused *Staphylococcus aureus* 4
- Gyulazyan N. M., Belaia O. F., Malov V. A., Pak S. G., Volchkova E. V.** Lipopolysaccharides/endotoxins of gram-negative bacteria: their role in the development of intoxication 11

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Belaia O. F., Zuevskaya S. N., Paevskaya O. A., Yudina Yu. V., Volchkova E. V., Pak S. G.** Seasonal fluctuations of *H. Pylori* markers in patients with acute viral hepatitis 17
- Butenko A. M., Kozlova A. A., Larichev V. F., Dzagurova T. K., Pantykhova R. A., Vazhnenkova N. S., Karlova V. M., Vasilkova O. I.** West Nile Fever in the Tula region, Russian Federation 20
- T. A. Kulshan, N. B. Cheldyshova, N. P. Guseva, N. I. Smirnova.** Comparative analysis of the genome regions associated with virulence in original classic and El Tor Biovars of *Vibrio cholerae* strains 26
- Yakovlev A. A., Kotlyarova S. I. Musatov V. B., Fedunyak I. P., Karnaukhov E. V., Vashukova S. S., Ivanova E. N.** Three epidemic seasons of flu in 2009-2013 33

REVIEWS

- Nikolaeva L. I., Leybman E. A., Sapronov G. V., Yudin A. N.** Liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in patients with chronic viral hepatitis c: some epidemiologic and molecular-genetic aspects 40
- Avdeeva M. G., Lysenko I. V.** On the question of pathogenesis of in chronic HCV-infection 52

HELP TO THE VIROLOGIST

- Azaryan A. R., Grishanova A. P., Ivashchenko E. I., Shendo G. L., Kovtunov A. I., Netalieva S. Zh., Babaeva M. A., Burkin A. V., Arshba T. E., Larichev V. F., Butenko A. M.** Experience of application of ELISA test kits for the serological diagnosis of West Nile fever 59

HISTORY OF MEDICINE

- Blokhina N. N.** Development of the Antiplague Service in prerevolutionary Russia 62

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

© БЕЛОБОРОДОВ В.Б., 2014

УДК 616.24-002.4-022:579.862.1]-078-08

Белобородов В.Б.

НЕКРОТИЗИРУЮЩАЯ ПНЕВМОНИЯ, ВЫЗВАННАЯ STAPHYLOCOCCUS AUREUS

ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования», 123995, Москва, ул. Баррикадная, 2/1

Некротизирующая пневмония, вызванная S. aureus, является нечастым, но очень тяжелым заболеванием с высокой летальностью. Пневмония возникает преимущественно у детей и лиц молодого возраста, развивается в течение нескольких суток, сопровождается множественными некрозами ткани легкого и часто приводит к летальному исходу. Особенностью возбудителя является способность к образованию порообразующего токсина, повреждающего различные клетки организма, в том числе нейтрофилы. Считается, что предшествующая вирусная инфекция, например грипп, является предрасполагающим фактором или коинфекцией, создающими предпосылки для разрушения нейтрофилов в легких с возникновением некрозов. Стафилококки не являются наиболее частыми возбудителями внебольничной пневмонии, поэтому режимы эмпирической терапии не включают препараты активные против чувствительных или резистентных к оксациллину/метициллину стафилококков. В результате эмпирический режим антибактериальной терапии оказывается неэффективным. Ранними клиническими признаками являются высокая лихорадка, кровь в мокроте, наличие полостей в легких, быстрое нарастание дыхательной недостаточности. Микроскопия мокроты с обнаружением большого количества стафилококков позволяет на раннем этапе установить этиологию возбудителя, до получения результатов посева обосновать применение препаратов, активных против стафилококков, а после получения микробиологических данных провести окончательную коррекцию антибактериальной терапии. Предшествующая пневмонии респираторная вирусная инфекция или неблагоприятная эпидемиологическая ситуация (эпидемия гриппа) также являются обоснованием для эмпирического применения антистафилококковых препаратов.

Ключевые слова: S. aureus; некротизирующая пневмония; лейкоцидин Пантона–Вилентайна.

V.B. Beloborodov

NECROTIZING PNEUMONIA CAUSED BY STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Federal State Budgetary Institution Russian medical academy of postgraduate education, 2/1 Barrikadnaya St., Moscow, Russian Federation, 123995

Necrotizing pneumonia caused by S. aureus is infrequent, but very serious illness with a high mortality. Pneumonia arises mainly in children and young adults, develops within several days is accompanied with multiple necroses in lung tissue, often leads to a lethal outcome. The feature of pathogen is ability to formation of pore-forming toxin destroying different cells in the body including polymorphonuclear leukocytes. The previous virus infection, for example flu, is considered a contributing factor or the co-infection which creates prerequisites for destruction of neutrophils in lungs with appearance of necroses. S. aureus is not the most frequent causative agent of community-acquired pneumonia therefore empirical therapy does not include antibiotics with the activity against staphylococci which are sensitive or resistant to oxacyllin/meticillin. As a result empirical regimen of antibacterial therapy appears not to be effective. Early clinical signs are a high fever, blood in the sputum, the presence of cavities in the lungs, a rapid increase in respiratory failure. The microscopy of sputum with detection of a large number of staphylococci allows to establish pathogen at an early stage, before obtaining results of microbiological tests to prove application of antibiotics active against staphylococci, and after receiving microbiological data to carry out the final correction of antibacterial therapy. Respiratory virus infection preceding pneumonia or adverse epidemiological situation (flu epidemic) also is the justification for empiric application of anti-staphylococcal antibiotics in community acquired pneumonia.

Key words: S. aureus; necrotizing pneumonia; Pantone–Valentine leukocidin.

Некротизирующая пневмония (НП) – сравнительно недавно описанная инфекция с высокой летальностью, возникающая преимущественно у исходно здоровых детей и лиц молодого возраста. Возбудителями являются штаммы *Staphylococcus aureus*, продуцирующие порообразующий токсин, получивший название лейкоцидина Пантона–Вилентайна (PVL) [1–3]. PVL состоит из двух субъединиц, белков LukS-PV и LukF-PV кодируемых генами pvl, интегрированными в хромосому чувствительных

(MSSA) или резистентных (MRSA) к метициллину *Staphylococcus aureus* [4].

Современные представления о НП основаны на изучении клинических данных у детей или лиц молодого возраста. Заболевание начиналось с гриппоподобного синдрома, после которого быстро нарастали признаки пневмонии, интоксикация, дыхательная недостаточность и септический шок. При запоздалом начале лечения отмечалась очень высокая летальность. При патолого-анатомическом исследовании выявляли геморрагические некрозы и обширную деструкцию в легких [5]. Классическая стафилококковая пневмония отличается от НП меньшей летальностью, наблюдается у более старших

Для корреспонденции: Белобородов Владимир Борисович, д-р мед. наук, проф. каф. инфекционных болезней, e-mail: vb_beloborodov@mail.ru

пациентов (≥ 60 лет), способствует обострению хронических заболеваний [5,6]. Кроме того, *S. aureus* не относится к частым возбудителям внебольничной пневмонии (1–10%), однако существенно чаще становится возбудителем нозокомиальной пневмонии (20–50%) [7].

В последнее десятилетие значительно увеличилось количество инфекций, вызванных внебольничными штаммами *S. aureus*, резистентными к метициллину (CA-MRSA) и несущими ген, кодирующий PVL. Особенно часто это наблюдается у штаммов MRSA USA300 и USA400, которые получили широкое распространение в Северной Америке и некоторых регионах Европы [8].

Обычно штаммы USA300 оказываются чувствительными к триметоприму/сульфаметоксазолу, клиндамицину, тетрациклину и резистентны к эритромицину и гатифлоксацину. Резистентность к эритромицину характерна для большинства штаммов (92,8%), а к клиндамицину только для 6,5% [9]. Имеются рекомендации CDC при резистентности к эритромицину и чувствительности к клиндамицину исследовать индуцибельную резистентность к клиндамицину (D-тест), так как имеются сообщения о неэффективности лечения клиндамицином [10]. Описаны полирезистентные клоны USA300, у которых оставалась чувствительность только к триметоприму/сульфаметоксазолу. Характерной для штаммов USA400 является резистентность к эритромицину, клиндамицину и чувствительность к другим антибиотикам [9, 11].

В Европе штаммы CA-MRSA более разнообразны генетически, однако доминирующим клоном является European ST80-MRSA-IV, при этом описаны и «американские» штаммы USA 300 в Великобритании и других странах [12]. В Греции до 92% всех CA-MRSA и 24% госпитальных инфекций MRSA были вызваны ST80 MRSA-IV [13]. У многих пациентов с выделенным клоном ST80 имеются эпидемиологические связи со средиземноморскими странами Северной Африки (Алжир, Тунис, Египет, Ливан), которые считаются источником происхождения этого клона [14].

Эти CA-MRSA оказываются возбудителями тяжелых глубоких инфекции кожи и мягких тканей. Однако возбудителями некротизирующих инфекций в США были продуцирующие PVL внебольничные, резистентные к метициллину *S. aureus* (CA-MRSA), а в Европе – большинство случаев НП было вызвано чувствительными к метициллину *S. aureus*, которые имели такую же вирулентность как клоны PVL-продуцирующих CA-MRSA [6, 15].

Несмотря на установленную эпидемиологическую связь между продуцирующими PVL *S. aureus* и НП, у некоторых специалистов оставались сомнения относительно роли PVL в развитии заболевания. Это было связано с противоречивыми результатами исследований инфекции на моделях у мышей. Они утверждали, что наличие генов PVL

не является основным фактором вирулентности, а является маркером других более важных факторов вирулентности [16–18]. Поэтому и клинические данные, и результаты экспериментальных работ необходимо рассматривать комплексно при оценке важности продукции PVL *S. aureus*, особенно когда эта инфекция сочетается с инфекцией, вызванной вирусом гриппа.

Клинические особенности НП

Типичный случай неблагоприятного течения НП недавно был описан в Германии у 54-летней женщины с сопутствующей артериальной гипертонией и коронарным атеросклерозом [2]. Особенностью случая были необычные жалобы на тошноту и рвоту одновременно с наличием признаков пневмонии. Несмотря на амбулаторное лечение амоксициллином, через 2 сут она была госпитализирована в крайне тяжелом состоянии с артериальной гипотензией, нарушенным сознанием, почечной недостаточностью и значительным повышением уровня маркеров воспаления. При рентгенографии органов грудной клетки подтверждена обширная двусторонняя инфильтрация в легких. Диагностирована пневмония, осложненная септическим шоком и тяжелым острым респираторным дистресс-синдромом. Отделяемое из дыхательных путей и посев крови были направлены на микробиологическое исследование. Антимикробная терапия продолжена пиперациллином/тазобактамом и ципрофлоксацином. Неэффективность неинвазивной вентиляции привела к необходимости интубации трахеи и ИВЛ. При первом исследовании в трахеальном отделяемом обнаружено скопление лейкоцитов и большого количества стафилококков. Из трахеального секрета и крови выделен штамм продуцирующего PVL штамма MSSA, который обладал гемолитической активностью. С целью оптимизации антистафилококкового компонента антибактериальной терапии назначена комбинация флуклоксацина, меропенема и клиндамицина. Кроме того, проведено исследование трахеального отделяемого на наличие вируса гриппа А. Из-за недостаточной эффективности ИВЛ, начиная со 2-х суток лечения, обеспечение газообмена осуществлялось с помощью экстракорпоральной мембранной оксигенации. В этой фазе болезни развилась лейкопения (2560/мл) и тромбоцитопения (21 000/мл). Несмотря на предпринятые меры, состояние не улучшилось и пациентка умерла в результате полиорганной недостаточности, вызванной септическим шоком, после 10 сут лечения в ОРИТ.

У этой пациентки было много симптомов, типичных для НП. В начале заболевания симптомы напоминали грипп: затруднение дыхания, кашель, лихорадка, боль в мышцах. При этом наблюдались и неспецифические симптомы – тошнота и рвота. Часто гриппиинфекция, вызванная PVL-продуцирующими *S. aureus* протекают в виде коинфекции, низкий лейкоцитоз является прогностическим признаком

летального исхода [6, 19]. Лейкопения может быть связана с прямым цитотоксическим действием PVL, однако нельзя исключить влияние вируса гриппа и генерализованного воспаления. Кровохарканье или кровотечение из дыхательных путей является еще одним негативным прогностическим фактором, так как отражает тяжесть повреждения легких [6]. Летальность пациентов с НП обычно высокая и составляет 40–60% [5].

Имеются данные описания 43 случаев заболевания, которые у 23 (53,5%) пациентов закончились летально. Выздоровление наблюдалось при раннем начале лечения до развития деструктивных изменений в легких и септической стадии процесса, однако оптимального общепризнанного алгоритма лечения нет [20, 21]. Антистафилококковые препараты являются наиболее важными компонентами лечения, так как ванкомицин, линезолид или флуклоксациллин в комбинации с клиндамицином или рифампицином способны снижать продукцию стафилококковых экзотоксинов, причем наиболее активным в этом плане является линезолид [22, 23]. Поскольку заболевание рассматривается как токсинассоциированное, дополнительными средствами лечения могут быть антитела, связывающие токсин, однако доказательств эффективности их применения пока не получено [21, 24, 25].

История изучения инфекции

Связь *S. aureus* с летальными случаями пневмонии во время эпидемии гриппа установлена достаточно давно [26]. Предполагается, что именно суперинфекция *S. aureus* была причиной большей части летальных исходов пандемии гриппа в 1918–1919 гг. («Испанка»), пандемии 1957–1958 гг. («Азиатский грипп»), так как именно его наиболее часто выделяли из дыхательных путей [20, 21, 27, 28]. Уже в 1919 г. были описаны случаи коинфекции *S. aureus*, причем эти случаи сопровождались быстрым развитием симптомов и были наиболее тяжелыми. Характерными признаками НП были бронхопневмония с обширной инфильтрацией легких при рентгенографии, лейкопения, кровохарканье и большое количество кокков в мокроте [19]. В последствии изучалась роль факторов вирулентности *S. aureus* (гемолизины, лейкоцидины) и их связь с развитием заболевания. Экзотоксин *S. aureus* (PVL) был назван (1936) в честь его открывателей Philip Noel Panton и Francis Valentine, которые в 1932 г. впервые доказали его роль в развитии тяжелых инфекций кожи и мягких тканей [29, 30]. Многие *S. aureus* обладают бинарными токсинами, состоящими из белков S и F, однако PVL оказался одним из мощнейших стимуляторов воспаления и некроза кожи [31]. В 1999 г. описаны клинические штаммы *S. aureus* с наличием генов PVL и показана их связь, кроме инфекций кожи, с тяжелыми внебольничными пневмониями с геморрагическими и некротическими проявлениями [32]. Это эпидемиологическое исследование указы-

вало на PVL как вероятный фактор вирулентности, приводящий к некрозам у пациентов с вирусной инфекцией. Три года спустя (2002) были представлены классическое описание некротизирующей пневмонии и основные признаки продукции PVL. Наличие некрозов при гистологическом исследовании легких определило название «Некротизирующая пневмония, вызванная *S. aureus*» [5]. По данным изученных 50 случаев НП (2007) были сделаны описания характера течения, типичных симптомов, факторов риска и предикторов летального исхода [6]. Именно в этом исследовании было показано, что кровотечение из дыхательных путей и лейкопения указывают на высокую вероятность летального исхода. В последующие годы опубликованы описания отдельных случаев и новые подходы к лечению, однако тенденции к снижению летальности не обнаружено.

Роль PVL в развитии НП

Несмотря на наличие эпидемиологических данных, у некоторых авторов остаются сомнения в патогенетической роли PVL. По их мнению, наличие генов, кодирующих PVL, является только маркером других более важных детерминант вирулентности [16, 17]. Причина сомнений – противоречивые результаты исследований на моделях некротизирующих инфекций. При использовании разных животных в качестве моделей некоторые ученые не смогли подтвердить патогенетическую роль PVL [33, 34]. Они предполагают важную роль других факторов вирулентности (α -гемолизин, растворимые в феноле модулины, энтеротоксины, подобные токсину X и белку A) [16, 18, 35–37].

Эти противоречия отчасти могут быть связаны с высокой специфичностью действия PVL на различные клетки и животных. PVL активирует воспалительный и цитотоксический эффекты нейтрофилов и макрофагов. Инкубация клеток с небольшим количеством PVL (0,04–0,4 мкг/мл; 1–10 нМ) приводит к активации инфламмосом и выделению громадного количества IL-1 β в течение нескольких минут [38, 39]. Активация клеток сопровождается их быстрой гибелью (20 мин), что связано с образованием пор на внешней оболочке без признаков апоптоза. Показано, что воспалительный и цитотоксический эффекты обладают высокой избирательностью в отношении определенных типов клеток и ограничивают дифференциацию клеток-предшественников гранулоцитов, при этом отличаются у разных животных [40, 41]. Клетки человека и кроликов обладают высокой чувствительностью к PVL, а клетки мышей или обезьян малочувствительны к PVL даже в том случае, если PVL применяли в дозах, превышающих указанные выше в 1000 раз. Эта высокая клеточная и видовая специфичность объясняется механизмом взаимодействия LukS-PV и рецептора C5a компонента комплемента, которые были обнаружены сравнительно недавно [42]. Другие факторы вирулентности стафилококков, например раствори-

мые в феноле модулины, не обладают видоспецифичностью, так как действуют одинаково на клетки разных видов [40]. Поэтому модели на мышах и приматах не являются адекватными для изучения вирулентности *S. aureus* у человека и требуют более сложных моделей на основе клеток человека или других чувствительных видов [33, 43].

Разрушительный эффект PVL на ткань легких не может быть изучен напрямую: мощный воспалительный эффект PVL ограничен гранулоцитами, моноцитами и макрофагами, не оказывает влияния на клетки легких, эпителиальные и эндотелиальные клетки [40, 43]. Тканевые повреждения, вызванные PVL, возникают при быстрой деструкции гранулоцитов. Нейтрофилы являются клетками, которые рекрутируются в область воспаления и формируют первую линию защиты против инвазии возбудителей: вируса гриппа и *S. aureus*. Их гранулы содержат большое количество сериновых протеаз и других агрессивных компонентов, необходимых для разрушения микроорганизмов внутри фагосом [44, 45]. При инфекции, вызванной продуцирующим штаммом *S. aureus*, PVL вызывает быстрый некроз клеток [40]. При неконтролируемой гибели гранулоцитов молекулы с мощным антимикробным потенциалом повреждают окружающие ткани. Это ранее было показано на модели некротизирующей пневмонии у кроликов, при этом у кроликов с нейтропенией не развивались тяжелые повреждения легких после введения PVL [33]. Только недавно появилась возможность воспроизведения этого механизма на мышах, у которых инфильтрация легких была произведена лейкоцитами человека, обработанными PVL, что приводило к тяжелому повреждению ткани легких [43]. Таким образом, массивная и неконтролируемая гибель нейтрофилов с выделением агрессивных ферментов оказалась очень похожей на то, что надо было доказать.

В сыворотке крови содержится много компонентов, например α_1 -антитрипсин, который быстро инактивирует протеазы нейтрофилов. В альвеолах легких имеется сурфактант, который содержит некоторое количество ингибиторов протеаз [46]. Однако его протективная активность в альвеолярном пространстве оказывается недостаточной. Поэтому протеазы, выделяющиеся при неконтролируемой гибели нейтрофилов, способны вызывать разрушение чувствительных структур альвеолярной ткани и приводить к НП.

НП и роль предшествующей вирусной инфекции

Эпидемиологические исследования риска НП показали важное значение предшествующего гриппа [5, 6, 32]. Эта связь была подтверждена описаниями отдельных случаев: из 43 пациентов с НП у 12 был подтвержденный грипп и 16 имели характерные симптомы гриппа. У 12 пациентов имелись тошнота, рвота, диарея или признаки колита. Эти симптомы редко встречаются при классическом те-

чении пневмонии, вызванной *S. aureus*, но чаще отмечаются при гриппе, например во время пандемии свиного гриппа (H1N1) в 2009 г. [47]. Остается непонятным, связано ли это с влиянием вирусной инфекции на органы пищеварения или грипп является предрасполагающим фактором к увеличению частоты бактериальных инфекций толстого кишечника, например аппендицита.

Особенности вирусов могут оказывать влияние на исход тяжелой пневмонии, существенно изменяется и динамика экспрессии вирусных белков у разных штаммов. Сиквенс-варианты факторов вирулентности, например неструктурных белков NS-1 и PB1-F2, являются специфическими для различных штаммов, что приводит к различной реакции клеток. Поздние белки не экспрессируются при действии каждого штамма вируса гриппа, но часто появляются при пневмонии [48]. В контексте развития тяжелой вторичной пневмонии обсуждается регуляция клеточных механизмов иммунитета (NS-1, PB1-F2 и белков ионных каналов M2), например индукции апоптоза клеток, зараженных вирусом гриппа [49, 50]. Более того, вирус гриппа способен манипулировать апоптоитическими и иммуномодулирующими клеточными механизмами, использовать апоптоз для поддержания собственной репликации [48]. Именно опосредованные вирусом гриппа тканевые повреждения считаются наиболее важной причиной, способствующей развитию бактериальных инфекций [49, 50].

Для изучения влияния гриппа на возникновение пневмонии, вызванной *S. aureus*, применялись различные модели взаимодействия между возбудителями, возбудителем и организмом хозяина. Имеются доказательства того, что и вирус гриппа, и бактерия стимулируют инфекционный процесс, например, вирусная инфекция увеличивает вероятность прикрепления бактерий и инвазию клеток легких [51]. Некоторые штаммы *S. aureus* выделяют протеазы, которые при освобождении активируют вирусный гемагглютинин и таким образом усиливают репликацию вируса гриппа, его вирулентность и патогенность [52, 53]. При изучении механизмов защиты было показано, что вирусные инфекции легких способны нарушить функцию иммунной системы и способствовать возникновению вторичной инфекции легких. Важнейшим механизмом является продукция в легких IFN-I, синтез которого при гриппе осуществляется Т-клетками. Это приводит к нарушению устойчивости к бактериям, например, благодаря подавлению их клиренса альвеолярными макрофагами и снижению активности естественных киллерных клеток [54, 55]. Взаимодействие между хозяином и возбудителем может быть очень разным в отношении определенных штаммов, вероятно, различается при разных эпидемиях и в разных географических регионах [49, 50].

Другим важным патогенетическим фактором может быть усиление воспаления в легких при бак-

териальной суперинфекции у больных гриппом [56]. Хорошо известно, что вирус гриппа является мощным стимулятором воспалительного процесса в легких. Выделение цитокинов происходит в результате вирусной инфекции и инфильтрации легких иммунными клетками (нейтрофилы, моноциты, макрофаги) [57, 58]. Образование цитокинов обязательно происходит при иммунном ответе на вирус гриппа, однако оно может быть избыточным и происходить с регуляторными нарушениями. Состояние, которое получило наименование «цитокиновый шторм», может оказывать влияние на тяжесть состояния и летальность больных гриппом [59, 60]. При массивной инфильтрации легких иммунными клетками в результате суперинфекции *S. aureus*, продуцирующими PVL, лизис инфильтрирующих клеток PVL может приводить к резкому усилению тканевых повреждений и некрозу легочной ткани.

Концепция патогенеза НП

НП определяется как отдельная форма заболевания, которая отличается тяжестью течения от классической пневмонии, вызванной *S. aureus*, не способными к синтезу PVL. Основными признаками НП являются: предшествующая инфекция вирусом гриппа, острое начало и быстрое нарастание симптомов, лейкопения, кровотечение из дыхательных путей, тяжелая дыхательная недостаточность, высокая летальность и обширная некротическая деструкция легких [5, 6].

В экспериментальных, клинических и эпидемиологических исследованиях показана разница между некротизирующими (PVL) и другими инфекциями, вызванными *S. aureus*, это объясняется участием в патогенезе различных факторов вирулентности *S. aureus*. При классической пневмонии, вызванной *S. aureus*, факторами вирулентности являются токсины, адгезины, ферменты и иммуномодуляторы [61, 62]. Основным отличием некротизирующих инфекций от заболеваний, связанных с токсинами, является действие PVL на иммунные клетки – мощного активатора и цитотоксина в отношении нейтрофилов, моноцитов и макрофагов человека. Нейтрофилы содержат большое количество сериновых протеаз, которые находятся в гранулах и способны выделяться при гибели клеток, связанной с действием PVL, в окружающие ткани. Именно в легких этот механизм может быть причиной массивной тканевой деструкции, так как в альвеолярном пространстве активность протеазных ингибиторов низкая. Поэтому ткань легкого является объектом повреждения при инфекциях, связанных с PVL, так как в крови происходит быстрая инактивация ингибиторами протеаз и антителами против PVL. Инактивация PVL в сыворотке также может объяснять тот факт, что при инфекциях кожи и мягких тканей прогноз существенно более благоприятный, чем при НП [6, 63]. Кроме того, инфекции, связанные с PVL, преимущественно возникают у молодых людей (средний возраст 25

лет), что объясняется отсутствием высокого уровня протективных антител против PVL [43].

Согласно этой концепции, эффект PVL зависит от количества поврежденных иммунных клеток. При предшествующем гриппе имеется значительная инфильтрация легких активированными воспалительными клетками [57]. Эти клетки содержат большое количество протеаз и других активных компонентов [64]. Если низкие дозы PVL могут быть причиной гибели клеток, то суперинфекция штаммом с массивной продукцией PVL приводит к мощной активации и деструкции инфильтрированных гранулоцитов, моноцитов и макрофагов, из которых выделяется содержимое гранул, превышающее нейтролизующую способность легких, в результате чего возникает НП. При подтвержденном или предполагаемом гриппе может возникать НП. Иногда НП предшествуют инфекции, вызванные другими вирусами (респираторно-синтициальным, парагриппа). Появление необычных симптомов (тошнота, рвота) может указывать на неустановленную вирусную инфекцию. Эти наблюдения поддерживают гипотезу индуцированной вирусами инфильтрации иммунных клеток, а не наличия специфических для вируса гриппа факторов вирулентности, способствующих развитию НП.

Кроме того, НП может быть вызвана образованием токсинов в легких. В результате действия токсинов деструкция ткани происходит быстро и не может быть эффективно подавлена антибиотиками, так как их применение должно начинаться еще раньше. Поэтому НП должна быть диагностирована до того, как заболевание входит в септическую или деструктивную фазу. У молодых людей при сочетании пневмонии с появлением нехарактерных симптомов, быстрого ухудшения состояния, затруднения дыхания и лейкопении должна быть заподозрена НП. Обнаружение большого количества стафилококков в отделяемом из трахеи также может служить диагностическим экспресс-методом. После забора образцов для микробиологического исследования необходимо немедленно назначить антистафилококковые антибиотики и клиндамицин для снижения образования токсина или даже назначить препараты, способные связывать токсин. При раннем начале лечения пациент может выздороветь без признаков дальнейшего развития заболевания легких [20].

Заключение и перспективы

НП встречается не часто, однако должна быть своевременно диагностирована, в противном случае адекватность антимикробной терапии на ранней стадии оказывается сомнительной и наблюдается массивное поражение легочной ткани. В дальнейшем возможности лечения становятся ограниченными и высока вероятность неблагоприятного исхода.

Эффективных и надежных патогенетических препаратов против заболеваний, связанных с PVL, пока нет, однако они разрабатываются. В отсутствие

вакцинации может быть полезен поливалентный человеческий иммуноглобулин, содержащий антитела к PVL, способные подавлять его цитотоксический эффект на полиморфнонуклеарные клетки, что было показано *in vitro* [25]. Однако в моделях показано, что антитела к PVL способны даже повысить чувствительность животных к инфекции [65]. Более того, высокий уровень антител к PVL не приводил к устойчивости к стафилококковым инфекциям кожи и мягких тканей [66]. Поэтому роль антител к PVL при различных заболеваниях, включая НП и ИКМТ, необходимо изучать по отдельности на разных моделях.

Сравнительно недавно были обнаружены механизмы специфического связывания PVL с иммунными клетками, эти данные могут стать основой для внедрения нового метода лечения [42]. Если связывание PVL с поверхностью целевых клеток является критическим в формировании пор и их деструкции, воздействие на этой стадии может быть очень эффективным в плане ограничения развития болезни, особенно если такое лечение начинается до возникновения необратимой деструкции в легких. Близкая чувствительность кроличьих и человеческих нейтрофилов к PVL указывает на то, что именно модель НП у кроликов должна использоваться на доклинической стадии оценки действия препаратов против PVL. Необходимы дальнейшие клинические исследования эффективности новых препаратов, активных против PVL (например, специфических моноклональных нейтрализующих антител), для профилактики развития НП у человека.

При пандемии гриппа НП может представлять отдельную сложную проблему. Из-за распространения штаммов *S. aureus*, продуцирующих PVL, стафилококковая суперинфекция больных гриппом может быть очень актуальной. Возрастание актуальности НП можно прогнозировать в периоды повышения заболеваемости гриппом.

ЛИТЕРАТУРА

- Low D.E. Toxic shock syndrome: major advances in pathogenesis, but not treatment. *Crit. Care Clin.* 2013; 29 (3): 651–75.
- Löffler B., Niemann S., Ehrhardt C. et al. Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* necrotizing pneumonia. The role of PVL and an influenza coinfection. *Expert Rev. AntiInfect. Ther.* 2013; 11 (10): 1041–51.
- Schweigert M., Dubecz A., Beron M. et al. Surgical therapy for necrotizing pneumonia and lung gangrene. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2013; 61 (7): 636–41.
- Kaneko J., Kamio Y. Bacterial two-component and heteroheptameric pore-forming cytolytic toxins: structures, pore-forming mechanism, and organization of the genes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2004; 68 (5): 981–1003.
- Gillet Y., Issartel B., Vanhems P. et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton–Valentine leukocidin and highly lethal necrotizing pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet.* 2002; 359 (9308): 753–9.
- Gillet Y., Vanhems P., Lina G. et al. Factors predicting mortality in necrotizing community-acquired pneumonia caused by *Staphylococcus aureus* containing Panton–Valentine leukocidin. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 45 (3): 315–21.
- Howard L.S., Sillis M., Pasteur M.C., Kamath A.V., Harrison B.D. Microbiological profile of community-acquired pneumonia in adults over the last 20 years. *J. Infect.* 2005; 50 (2): 107–13.
- Limbago B., Fosheim G.E., Schoonover V. et al. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates collected in 2005 and 2006 from patients with invasive disease: a population-based analysis. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47 (5): 1344–51.
- Mendes R.E., Sader H.S., Deshpande L.M., Diep B.A., Chambers H.F., Jones R.N. Characterization of baseline methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from phase IV clinical trial for linezolid. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48: 568–74.
- Gorwitz R.J., Jernigan D.B., Powers J.H., Jernigan J.A. Participants in the CDC- Convened Experts' Meeting on Management of MRSA in the Community. Strategies for clinical management of MRSA in the community: summary of an experts' meeting convened by the CDC and Prevention (2012). www.cdc.gov/mrsa/pdf/MRSA-Strategies-ExpMtgSummary-2006.pdf
- Chua K., Laurent F., Coombs G. et al. Antimicrobial resistance: Not community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA)! A clinician's guide to community MRSA – its evolving antimicrobial resistance and implications for therapy. *Clin. Infect. Dis.* 2011; 52: 99–114.
- Rolo J., Miragaia M., Turlej-Rogacka A. et al. High genetic diversity among community-associated *Staphylococcus aureus* in Europe: results from a multicenter study. *PLoS One.* 2012; 7 (4): e34768.
- Chini V., Petinaki E., Meugnier H., Foka A., Bes M., Etienne J. et al. Emergence of a new clone carrying Panton–Valentine leukocidin genes and staphylococcal cassette chromosome *mec* type V among MRSA in Greece. *Scand. J Infect. Dis.* 2008; 40: 368–72.
- Otter J.A., French G.L. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet. Infect. Dis* 2010; 10: 227–39.
- Sicot N., Khanafer N., Meysssonier V. et al. Methicillin resistance is not a predictor of severity in community-acquired *Staphylococcus aureus* necrotizing pneumonia – results of a prospective observational study. *Clin. Microbiol. Infect.* 2013; 19 (3): E142–8.
- Bubeck W.J., Bae T., Otto M. et al. Poring over pores: alpha-hemolysin and Panton–Valentine leukocidin in *Staphylococcus aureus* pneumonia. *Nature Med.* 2007; 13 (12): 1405–6.
- Otto M. Basis of virulence in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Annu. Rev. Microbiol.* 2010; 64: 143–62.
- Voyich J.M., Otto M., Mathema B. et al. Is Panton–Valentine leukocidin the major virulence determinant in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease? *J. Infect. Dis.* 2006; 194 (12): 1761–70.
- Chickering H.T., Park J.H. *Staphylococcus aureus* pneumonia. *J. A. M. A.* 1919; 72 (9): 617–26.
- Rouzic N., Janvier F., Libert N. et al. Prompt and successful toxin-targeting treatment of three patients with necrotizing pneumonia due to *Staphylococcus aureus* strains carrying the Panton–Valentine leukocidin genes. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48 (5): 1952–5.
- Hidron A.I., Low C.E., Honig E.G., Blumberg H.M. Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain USA300 as a cause of necrotizing community-onset pneumonia. *Lancet Infect. Dis.* 2009; 9 (6): 384–92.
- Diep B.A., Afasizheva A., Le H.N. et al. Effects of linezolid on suppressing *in vivo* production of staphylococcal toxins and survival outcomes in a rabbit model of MRSA necrotizing pneumonia. *J. Infect. Dis.* 2013; 208 (1): 75–82.
- Gillet Y., Dumitrescu O., Tristan A. et al. Pragmatic management of Panton–Valentine leukocidin-associated staphylococcal diseases. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2011; 38 (6): 457–64.
- Hampson F.G., Hancock S.W., Primhak R.A. Disseminated sepsis due to a Panton–Valentine leukocidin producing strain of community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and use of intravenous immunoglobulin therapy. *Arch. Dis. Child.* 2006; 91 (2): 201.
- Gauduchon V., Cozon G., Vandenesch F. et al. Neutralization of *Staphylococcus aureus* Panton–Valentine leukocidin by

- intravenous immunoglobulin in vitro. *J. Infect. Dis.* 2004; 189 (2): 346–53.
26. Rothberg M.B., Haessler S.D., Brown R.B. Complications of viral influenza. *Am. J. Med.* 2008; 121 (4): 258–64.
 27. Morens D.M., Taubenberger J.K., Fauci A.S. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness. *J. Infect. Dis.* 2008; 198 (7): 962–70.
 28. Robertson L., Caley J.P., Moore J. Importance of *Staphylococcus aureus* in pneumonia in the 1957 epidemic of influenza A. *Lancet.* 1958; 2: 233–6.
 29. Wright J. Staphylococcal leukocidin (Neisser–Wechsberg type) and antileucociddin. *Lancet.* 1936 (2): 1002–4.
 30. Pantón P.N., Valentine F.C.O. Staphylococcal toxin. *Lancet.* 1932; 5: 506–8.
 31. König B., Prevost G., König W. Composition of staphylococcal bi-component toxins determines pathophysiological reactions. *J. Med. Microbiol.* 1997; 46 (6): 479–85.
 32. Diep B.A., Chan L., Tattevin P. et al. Polymorphonuclear leukocytes mediate *Staphylococcus aureus* Pantón–Valentine leukocidin-induced lung inflammation and injury. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010; 107 (12): 5587–92.
 33. Labandeira-Rey M., Couzon F., Boisset S. et al. *Staphylococcus aureus* Pantón–Valentine leukocidin causes necrotizing pneumonia. *Science.* 2007; 315 (5815): 1130–3.
 34. Bubeck W.J., Palazzolo-Ballance A.M., Otto M. et al. Pantón–Valentine leukocidin is not a virulence determinant in murine models of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease. *J. Infect. Dis.* 2008; 198 (8): 1166–70.
 35. Olsen R.J., Kobayashi S.D., Ayeras A.A. et al. Lack of a major role of *Staphylococcus aureus* Pantón–Valentine leukocidin in lower respiratory tract infection in nonhuman primates. *Am. J. Pathol.* 2010; 176 (3): 1346–54.
 36. Wilson G.J., Seo K.S., Cartwright R.A. et al. A novel core genome-encoded superantigen contributes to lethality of community-associated MRSA necrotizing pneumonia. *PLoS Pathog.* 2011; 7 (10): e1002271.
 37. Holzinger D., Gieldon L., Mysore V. et al. *Staphylococcus aureus* Pantón–Valentine leukocidin induces an inflammatory response in human phagocytes via the NLRP3 inflammasome. *J. Leukoc. Biol.* 2012; 92 (5): 1069–81.
 38. Perret M., Badiou C., Lina G. et al. Cross-talk between *Staphylococcus aureus* leukocidins-intoxicated macrophages and lung epithelial cells triggers chemokine secretion in an inflammasome-dependent manner. *Cell. Microbiol.* 2012; 14 (7): 1019–36.
 39. Löffler B., Hussain M., Grundmeier M. et al. *Staphylococcus aureus* panton-valentine leukocidin is a very potent cytotoxic factor for human neutrophils. *PLoS Pathog.* 2010; 6 (1): e1000715.
 40. Szmigielski S., Prevost G., Monteil H., Colin D.A., Jeljaszewicz J. Leukocidal toxins of staphylococci. *Zbl. Bakteri.* 1999; 289 (2): 185–201.
 41. Spaan A., Thomas H.T., van Rooijen W.J.M. et al. Staphylococcal Pantón–Valentine leukocidin targets C5a receptors. *Cell Host Microbe.* 2013; 13 (5): 584–94.
 42. Niemann S., Ehrhardt C., Medina E. et al. Combined action of influenza virus and *Staphylococcus aureus* Pantón–Valentine leukocidin provokes severe lung epithelium damage. *J. Infect. Dis.* 2012; 206 (7): 1138–48.
 43. Hager M., Cowland J.B., Borregaard N. Neutrophil granules in health and disease. *J. Intern. Med.* 2010; 268 (1): 25–34.
 44. Korkmaz B., Moreau T., Gauthier F. Neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G: physicochemical properties, activity and physiopathological functions. *Biochimie.* 2008; 90 (2): 227–42.
 45. Garcia-Verdugo I., Descamps D. et al. Lung protease/anti-protease network and modulation of mucus production and surfactant activity. *Biochimie.* 2010; 92 (11): 1608–17.
 46. Cunha B.A., Perez F.M., Durie N. Swine influenza (H1N1) and acute appendicitis. *Heart Lung.* 2010; 39 (6): 544–6.
 47. Herold S., Ludwig S., Pleschka S., Wolff T. Apoptosis signaling in influenza virus propagation, innate host defense, and lung injury. *J. Leukoc. Biol.* 2012; 92 (1): 75–82.
 48. McCullers J.A. Do specific virus-bacteria pairings drive clinical outcomes of pneumonia? *Clin. Microbiol. Infect.* 2013; 19 (2): 113–8.
 49. Iverson A.R., Boyd K.L., McAuley J.L. et al. Influenza virus primes mice for pneumonia from *Staphylococcus aureus*. *J. Infect. Dis.* 2011; 203 (6): 880–8.
 50. Passariello C., Nencioni L., Sgarbanti R. et al. Viral hemagglutinin is involved in promoting the internalisation of *Staphylococcus aureus* into human pneumocytes during influenza A H1N1 virus infection. *Int. J. Med. Microbiol.* 2011; 301 (2): 97–104.
 51. Scheiblaue H., Reinacher M., Tashiro M., Rott R. Interactions between bacteria and influenza A virus in the development of influenza pneumonia. *J. Infect. Dis.* 1992; 166 (4): 783–91.
 52. Tashiro M., Ciborowski P., Klenk H.D. et al. Role of *Staphylococcus protease* in the development of influenza pneumonia. *Nature.* 1987; 325 (6104): 536–7.
 53. Small C.L., Shaler C.R., McCormick S. et al. Influenza infection leads to increased susceptibility to subsequent bacterial superinfection by impairing NK cell responses in the lung. *J. Immunol.* 2010; 184 (4): 2048–56.
 54. Sun K., Metzger D.W. Inhibition of pulmonary antibacterial defense by interferon-gamma during recovery from influenza infection. *Nature Med.* 2008; 14 (5): 558–64.
 55. Zavitz C.C., Bauer C.M., Gaschler G.J. et al. Dysregulated macrophage-inflammatory protein-2 expression drives illness in bacterial superinfection of influenza. *J. Immunol.* 2010; 184 (4): 2001–13.
 56. Dessing M.C., van der Sluijs K.F., Florquin S., van der Poll T. Monocyte chemoattractant protein 1 contributes to an adequate immune response in influenza pneumonia. *Clin. Immunol.* 2007; 125 (3): 328–36.
 57. Wareing M.D., Lyon A.B., Lu B., Gerard C., Sarawar S.R. Chemokine expression during the development and resolution of a pulmonary leukocyte response to influenza A virus infection in mice. *J. Leukoc. Biol.* 2004; 76 (4): 886–95.
 58. Bordon J., Aliberti S., Fernandez-Botran R. et al. Understanding the roles of cytokines and neutrophil activity and neutrophil apoptosis in the protective versus deleterious inflammatory response in pneumonia. *Int. J. Infect. Dis.* 2013; 17 (2): e76–e83.
 59. Teijaro J.R., Walsh K.B., Cahalan S. et al. Endothelial cells are central orchestrators of cytokine amplification during influenza virus infection. *Cell.* 2011; 146 (6): 980–91.
 60. Lowy F.D. *Staphylococcus aureus* infections. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339 (8): 520–32.
 61. Watkins R.R., David M.Z., Salata R.A. Current concepts on the virulence mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol.* 2012; 61 (Pt 9): 1179–93.
 62. Kreienbuehl L., Charbonney E., Eggimann P. Community-acquired necrotizing pneumonia due to methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* secreting Pantón–Valentine leukocidin: a review of case reports. *Ann. Intensive Care.* 2011; 1 (1): 52.
 63. van Wetering S., Manesse-Lazeroms S.P., Dijkman J.H., Hiemstra P.S. Effect of neutrophil serine proteinases and defensins on lung epithelial cells: modulation of cytotoxicity and IL-8 production. *J. Leukoc. Biol.* 1997; 62 (2): 217–26.
 64. Yoong P., Pier G.B. Antibody-mediated enhancement of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010; 107 (5): 2241–6.
 65. Hermos C.R., Yoong P., Pier G.B. High levels of antibody to Pantón–Valentine leukocidin are not associated with resistance to *Staphylococcus aureus*-associated skin and soft-tissue infection. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 51 (10): 1138–46.
 66. Al-Tawfiq J.A., Aldaabil R.A. Community-acquired MRSA bacteremic necrotizing pneumonia in a patient with scrotal ulceration. *J. Infect.* 2005; 51 (4): e241–3.

Гюлазян Н.М.¹, Белая О.Ф.², Малов В.А.², Пак С.Г.², Волчкова Е.В.²

ЛИПОПОЛИСАХАРИДЫ/ЭНДОТОКСИНЫ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ: РОЛЬ В РАЗВИТИИ ИНТОКСИКАЦИИ

¹Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци Министерства образования и науки Армении, Ереван, 0025, ул. Коряна 2;

²ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, 119991, Москва, ул. Трубецкая 8, стр. 2

Многочисленные клинико-экспериментальные исследования позволяют рассматривать бактериальные эндотоксины как основные факторы, индуцирующие развитие синдрома интоксикации при инфекционных и неинфекционных заболеваниях. Липополисахарид (ЛПС) является мощным структурным компонентом грамотрицательных бактерий, с его действием на организм связывают все объективные клинические проявления интоксикации. Активация иммунных клеток ЛПС ведет к выбросу воспалительных медиаторов: цитокинов, хемокинов, ферментов, эйкозаноидов, адгезивных молекул и свободных радикалов, ответственных за развитие воспалительных реакций и способных вызывать патофизиологические процессы, включая септический шок.

В настоящее время разработаны и используются различные методы определения эндотоксина/ЛПС в биологических средах, которые основаны как на детекции его серологических маркеров, так и на регистрации вызываемых им биологических эффектов.

Ключевые слова: острые кишечные инфекции; эндотоксин/липополисахарид; O-антиген; синдром интоксикации; детекция эндотоксинов.

Gyulazyan N.M.¹, Belaya O.F.², Malov V.A.², Pak S.G.², Volchkova E.V.²

LIPOPOLYSACCHARIDES / ENDOTOXINS OF GRAM-NEGATIVE BACTERIA: THEIR ROLE IN DEVELOPING INTOXICATION

¹Yerevan State Medical University after MkhitarHeratsi of the Ministry of Education and Science of the Republic of Armenia, 2 Koryun street, 0025 Yerevan, Armenia;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 8-2 Trubetskaya street, 119991 Moscow, Russia

Numerous clinical and experimental studies allow us to consider bacterial endotoxins as the main factors inducing the development of intoxication syndrome in infectious and non-infectious diseases.

LPS is the major structural component of Gram-negative bacteria; its effect on the body is related to all the objective clinical manifestations of intoxication. The activation of immune cells by LPS results in the release of inflammatory mediators: cytokines, chemokines, enzymes, eicosanoids, adhesion agents and free radicals that are responsible for the progression of inflammatory reactions and may induce pathophysiological processes including septic shock.

Currently, various techniques are developed and used for endotoxin /LPS determination in biological environments that are based both on detection of its serological markers and registration of its biological effects.

Key words: acute intestinal infection; endotoxin/lipopolysaccharide; O-antigen; syndrome of intoxication; endotoxin detection.

Более столетия назад Richard Pfeiffer, работающий в лаборатории R. Koch, выделил при лизисе *V. cholerae*-термостабильную субстанцию, которая при введении животным вызывала шок. Поскольку данная субстанция могла быть получена только путем лизиса бактерий в противовес уже тогда известным экзотоксинам, R. Pfeiffer стал обозначать ее как эндотоксин [1]. Именно благодаря относительной простоте получения эндотоксина данная токсическая субстанция оказалась изучена значительно лучше, чем бактериальные экзотоксины.

Но даже сегодня по прошествии значительного времени, интенсивного, глубокого и всестороннего изучения эндотоксинов грамотрицательных бактерий эти молекулы не перестают удивлять исследователей своими многогранными, порой противополо-

жными свойствами [1, 2]. Интерес к фармакологической активности липополисахаридов (ЛПС) не ослабевает в мире по настоящее время [3–10].

По химической структуре эндотоксин представляет ЛПС комплекс с молекулярной массой 2000–20000Da. Молекула ЛПС состоит из бифосфорилированного липида (липид А) и гидрофильного полисахарида. Полисахаридная часть состоит из двух отличных областей: олигосахаридного ядра, содержащего 10–12 сахаров и полисахаридных повторяющихся цепей, формирующих O-специфические цепи – O-антигены (O-Ag). Ядро ковалентно связано кислыми сахарами (обычно 3-deoxy-D-manno-oct-2-улопираносоновая кислота – Kdo) с липидом А.

Дикие типы энтеробактерий, обладающие O-специфическими полисахаридными цепями, по морфологическим признакам формируемых колоний обозначаются как «гладкие» (S-тип). Полная цепь полисахарида может содержать до 50 единиц. Мутантные штаммы энтеробактерий, имеющие де-

Для корреспонденции: Гюлазян Наира Мартуновна, д-р мед. наук, проф. каф. инфекционных болезней ЕГМУ им. М. Гераци, Ереван, Армения, e-mail: g.naira@rambler.ru

фицит О-специфических цепей, формируют отличный морфологический тип колоний и обозначаются как R-типы («грубые»). В зависимости от глубины дефицита О-цепей их принято обозначать Ra, Rb, ... Re в порядке уменьшения длины полисахаридных цепей. Минимальная структура ЛПС, требуемая для роста грамотрицательных энтеробактерий, обнаружена у Re-мутантов, у которых липид А связан только двумя остатками Kdo [11].

Структура О-полисахаридной цепи обеспечивает серологическую специфичность штаммов бактерий. Наличие О-полисахаридных цепей, как известно, помогает бактериям уклоняться от действия защитных систем организма, особенно от действия компонентов системы комплемента.

Весьма распространенным является мнение, что структурная общность ЛПС энтеробактерий предопределяет и общие патогенетические механизмы их взаимодействия с гуморально-клеточными системами организма. В последние два–три десятилетия на экспериментальных моделях было установлено, что не все ЛПС идентично взаимодействуют с сигнальными системами, что позволяет говорить о том, что гетерогенность структуры ЛПС определяет особенности его биологической активности [2, 12]. Даже небольшая вариабельность в относительно консервативной области ЛПС – липиде А может иметь огромное влияние на биологическую активность всей молекулы ЛПС [13].

Для индукции *in vivo* таких классических токсических феноменов ЛПС, как пирогенность, реакция Shwartzman на кроликах и летальная токсичность на эмбрионе цыпленка, также требуется наличие в молекуле ЛПС строго определенных структур [12, 14]. Научное понимание и объяснение данного феномена было получено только после открытия ключевой роли Toll-like-рецепторов (TLR) в активации клеток, расшифровки механизмов внутриклеточной передачи сигналов и установления роли корцепторных взаимодействий. В частности, активация макрофагов ЛПС требует содружественного взаимодействия ЛПС-распознающих и сигнальных рецепторов (CD14-, CR3-рецепторы комплемента (CD11b/CD18) и TLR 4) [15]. Причем низкие концентрации ЛПС требуют участия как CD14, так и TLR4, тогда как при высоких концентрациях ЛПС активация может происходить в отсутствие CD14, а CR3 (CD11b/CD18) выполняет функцию своеобразного координатора между CD14 и TLR4 [16]. Сходные результаты были получены и при использовании конфокального анализа и трансфертной резонансной флуоресценции [17].

Длительное время единственным кандидатом на специфический рецептор к ЛПС оставалась молекула CD14, однако отсутствие у нее трансмембранного домена не позволяло объяснить механизм передачи сигнала, также экспериментально было установлено, что CD14-дефицитные клетки все же способны отвечать на ЛПС даже в среде без сыворотки [18].

Только в 1999 г. механизм чувствительности клеток к ЛПС был расшифрован благодаря выделению гена *lps* у гипореактивных к ЛПС мышей линии СЗН/HeJ, продуктом которого является белок, в последующем получивший название «Toll-like-рецепторы» (TLR-4) [19, 20].

Однако полная картина рецепторного комплекса к ЛПС была получена после открытия протеина MD-2, поскольку именно трансфекция клеток с этим протеином восстанавливает чувствительность клеток к ЛПС [21].

В настоящее время исследования продолжаются, и признается, что ЛПС некоторых бактерий, в частности *H. pylori*, *P. gingivalis*, *L. interrogans*, способны активировать клетки посредством TLR-2 [22–24].

ЛПС является одним из наиболее мощных естественных индукторов воспаления [13]. Усиление выработки цитокинов также находится в зависимости от структуры молекулы ЛПС. Хорошо известно, что ЛПС *B. pertussis* менее активен в отношении выработки ИЛ-1 моноцитами/макрофагами, чем ЛПС *N. meningitidis* и *E. coli* [25]. Цитокин-индуцирующая способность ЛПС зависит не только от количества жирно-кислотных остатков в структуре липида А, но и от типа и источника используемых в модельных исследованиях клеток. Именно последним объясняется весьма мозаичная способность определенных ЛПС стимулировать выработку цитокинов различными типами клеток.

Многочисленные клинико-экспериментальные исследования позволяют рассматривать бактериальные эндотоксины как основные факторы, индуцирующие развитие синдрома интоксикации при инфекционных и неинфекционных заболеваниях.

ЛПС является мощным структурным компонентом грамотрицательных бактерий, с его действием на организм связывают все объективные клинические проявления интоксикации [26, 27]. Активация иммунных клеток ЛПС ведет к выбросу воспалительных медиаторов: цитокинов, хемокинов, ферментов, эйкозаноидов, адгезивных молекул и свободных радикалов, ответственных за развитие воспалительных реакций и способных вызывать патологические процессы, включая септический шок. Биологические механизмы, лежащие в основе распознавания ЛПС и ответа на него, более характерны для гормонов, чем токсинов. ЛПС не менее эндотоксин, чем эндогормон, и его нейтрализация потенциально может быть как благоприятна, так и опасна [28]. Эндотоксины реализуют свой потенциал как напрямую, так и опосредованно [29, 30] (см. таблицу).

На ранних стадиях развития синдрома интоксикации под действием эндотоксинов происходит также активация фактора Хагемана (XII фактора свертывания), который является ключевым ферментом, связывающим в единую функциональную полисистему свертывающую, противосвертывающую и калликреин-кининовую системы, функциональное

Основные эффекты ЛПС/эндотоксина в организме [29]

Основное действие ЛПС	Патофизиологическая реакция
Прямое действие липида А	Активация фосфолипаз с последующим высвобождением арахидоновой кислоты и ее метаболизмом с образованием эйкозаноидов
Прямое воздействие на иммунокомпетентные клетки	Посредством действия через TLR, без антигенной презентации и клональной экспрессии происходит быстрая активация CD4 ⁺ , CD8 ⁺ , T-регуляторных клеток и клеток памяти
Прямое воздействие на гепатоциты	Изменяется проницаемость ионов Ca ⁺⁺ в цитоплазматической мембране, возникает прямой цитотоксический эффект, запускается пероксидация липидов, поражается цитохром P450
Опосредованное действие	Через клетки-мишени: выброс цитокинов, хемокинов, хемоаттрактантов, изменение функциональной активности клеток (макрофагов, Т- и В-лимфоцитов, дендритных клеток, клеток печени и др.), регуляция апоптоза, воздействия на сердечно-сосудистую, эндокринную и нервную системы, гемостаза и др.

состояние которых определяет параметры кардиогемодинамики, прогноз и исход заболевания [29].

Таким образом, несмотря на то что роль бактериальных ЛПС/эндотоксинов в развитии синдрома интоксикации не вызывает сомнений, тем не менее остаются недостаточно изученными вопросы патогенеза смешанных инфекций, скоординированного действия эндо- и экзотоксинов в условиях развития инфекционного процесса при острых кишечных инфекциях (ОКИ).

В настоящее время получены экспериментальные данные при моноинфекциях о том, что сочетанное присутствие ЛПС и экзотоксинов может изменять биологические эффекты каждого из них. Так, предварительная обработка макрофагов и моноцитов В субъединицей холерного токсина уменьшала провоспалительную активность этих клеток на ЛПС [31]; суперантигены, которые запускают поликлональную активацию Т-лимфоцитов с выбросом цитокинов и возможностью развития токсического шока, действуют синергично с ЛПС по интерферон-γ-зависимому пути [32]; повторное длительное введение холерного токсина изменяет системный иммунный ответ к ЛПС и вибриоцидную активность сыворотки [33]; ЛПС увеличивает эффект крайне низких доз токсина *A. C. difficile* на клетки Vero, что, вероятно, имеет значение при поражении кишечника клостридиями [34]; шигаподобный токсин sensibilizes эпителиальные клетки к апоптозу, индуцированному бактериальным ЛПС [35].

Биологический эффект сочетаний различных факторов патогенности (ЛПС, токсины, энзимы и др.) при микстинфекциях малоизучен.

Полученные нами данные в результате многолетних исследований свидетельствуют, что при ОКИ чаще одновременно в биопробах больных выявляются О-антиген (О-Аг) нескольких возбудителей, а также несколько экзотоксинов и это приводит к

тому, что бактериологическим методом, как правило, этиология заболевания не устанавливается, при использовании серологических методов выявляются антитела различной специфичности и при этом уровень формирования антитоксических иммунных комплексов при микстинфекциях ниже, чем при моноинфекции. При анализе выраженности клинической картины заболеваний ОКИ получены данные, свидетельствующие о мультипликации патогенного воздействия разных возбудителей (тестируемых по О-Аг и их экзотоксинам), что свидетельствует о необходимости учета и оценки суммарного токсического воздействия возбудителей на организм [36–39].

В настоящее время разработаны и используются различные методы определения эндотоксина/ЛПС в биологических средах, которые основаны как на детекции его серологических маркеров, так и на регистрации вызываемых им биологических эффектов [40]. Иммунологические методы являются наиболее используемыми методами обнаружения эндотоксина прежде всего как удобные и простые [41–46].

Характерно то, что, хотя антигены энтеробактерий определяются в биологических средах макроорганизма, выделить сам возбудитель стандартными методами порой не представляется возможным. При этом сохранение антигенности у пациентов может продолжаться длительно после перенесенного острого эпизода заболевания и при полном отсутствии его клинических проявлений [44, 45]. Есть все основания полагать, что антигенность в составе циркулирующих иммунных комплексов формируется не только после клинически манифестных форм заболеваний, но и после субклинических. Поскольку циркуляция антигенов энтеробактерий происходит не только в сыворотке, но и в составе иммунных комплексов, а также в других биологических жидкостях (слюна, копрофильтрат, моча), иммунологические тесты могут проявлять различную чувствительность с разными биосредами. Многими исследователями была продемонстрирована возможность обнаружения соматических О-Аг энтеробактерий в широком спектре других биологических жидкостей (слюне, копрофильтратах, моче, мокроте) [46–54]. Наиболее хорошо изучена динамика циркуляции в биологических средах соматического О-Аг (О-антигенность) у больных ОКИ, вызванных грамтрицательными бактериями [36, 46, 47, 49, 50, 52]. В конечном итоге наиболее эффективным является одновременное определение О-Аг в сыворотке крови (в составе циркулирующих иммунных комплексов) и копрофильтрата.

Из числа разработанных и используемых для изучения динамики и кинетики *in vivo* эндотоксинов/ЛПС кишечных бактерий следует назвать: ИФА [44, 45, 48], латекс-агглютинацию, коагглютинацию [46, 47, 50, 52–55], LAL (Limulus amoebocyte lysate)-тест [25, 56], варианты ПЦР [57] и т.д.

Основная проблема диагностики ОКИ по О-Аг

связана с полиэтиологичностью заболеваний и необходимостью в связи с этим использования в этих целях наборов диагностикумов для тестирования разных видов возбудителей (энтеробактерий, вибрионов, кампилобактерий и др.), т. е. создание мультиплексных тест-систем, и наиболее перспективны в этом направлении молекулярно-генетические методы, а из простых – такие методы, как латекс-агглютинация и коагглютинация.

ЛИТЕРАТУРА

- Caroff M., Karibian D., Cavaillon J.-M., Haeflner-Cavaillon N. Structural and functional analyses of bacterial lipopolysaccharides. *Microb. Infect.* 2002; 4: 915–26.
- Erridge C., Bennett-Guerrero E., Poxton I.R. Structure and function of lipopolysaccharides. *Microb. Infect.* 2002; 4: 837–51.
- Deiters U., Gumenscheimer M., Galanos C., Mühlradt P.F. Toll-like receptor 2- and 6-mediated stimulation by macrophage-activating lipopeptide 2 induces lipopolysaccharide (LPS) cross tolerance in mice, which results in protection from tumor necrosis factor alpha but in only partial protection from lethal LPS doses. *Infect. Immun.* 2003; 71: 4456–62.
- Gutsmann T., Müller M., Carroll S.F. et al. Dual role of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein in neutralization of LPS and enhancement of LPS-induced activation of mononuclear cells. *Infect. Immun.* 2001; 69: 6942–50.
- Hajishengallis G., Martin M., Schifferle R.E., Genco R.J. Counteracting interactions between lipopolysaccharide molecules with differential activation of Toll-like receptors. *Infect. Immun.* 2002; 70: 6658–64.
- Hamann L., Alexander C., Stamme C. et al. Acute-phase concentrations of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein inhibit innate immune cell activation by different LPS chemotypes via different mechanisms. *Infect. Immun.* 2005; 73: 193–200.
- Iwagaki A., Porro M., Pollack M. Influence of synthetic antiendotoxin peptides on lipopolysaccharide (LPS) recognition and LPS-induced proinflammatory cytokine responses by cells expressing membrane-bound CD14. *Infect. Immun.* 2000; 68: 1655–63.
- Levels J.H.M., Abraham P.R., van den Ende A., van Deventer S.J.H. Distribution and kinetics of lipoprotein-bound endotoxin. *Infect. Immun.* 2001; 69: 2821–8.
- Suzuki M., Hisamatsu T., Podolsky D.K. Gamma interferon augments the intracellular pathway for lipopolysaccharide (LPS) recognition in human intestinal epithelial cells through coordinated up-regulation of LPS uptake and expression of the intracellular Toll-like receptor 4-MD-2 complex. *Infect. Immun.* 2003; 71: 3503–11.
- Varma T.K., Toliver-Kinsky T.E., Lin C.Y. et al. Cellular mechanisms that cause suppressed gamma interferon secretion in endotoxin-tolerant mice. *Infect. Immun.* 2001; 69: 5249–63.
- Rietschel E.T., Kirikae T., Schade F.U. et al. The chemical structure of bacterial endotoxin in relation to bioactivity. *Immunobiology.* 1993; 187: 169–90.
- Din Z.Z., Mukerjee P., Kastowsky M., Takayama K. Effect on solubility and ionic state of lipopolysaccharide obtained from the deep rough mutant of *E. coli*. *Biochemistry.* 1993; 32 (17): 4579–86.
- Bäckhed F., Normark S., Schweda E.K.H. et al. Structural requirements for TLR4-mediated LPS signalling: a biological role for LPS modifications. *Microb. Infect.* 2003; 5: 1057–63.
- Takada H., Kotani S. Bacterial endotoxic lipopolysaccharides. In: Morrison D.C., Ryan J.L., eds. *Bacterial endotoxic lipopolysaccharides*. Boca Raton: CRC Press; 1992: 107–34.
- Perera P.Y., Mayadas T.N., Takeuchi O. et al. CD11b/CD18 acts in concert with CD14 and Toll-like receptor (TLR) 4 to elicit full lipopolysaccharide and taxol-inducible gene expression. *J. Immunol.* 2001; 166: 574–81.
- Munford R.S. Sensing gram-negative bacterial lipopolysaccharides: A human disease determinant? *Infect. Immun.* 2008; 76 (2): 454–65.
- Götz A., Orso G., Rothe G., Schmitz G. Ligand specific heteromeric CD14-clustering in inflammation. *J. Endotoxin Res.* 2000; 6: 106–10.
- Akashi S., Ogata H., Kirikae F. et al. Regulatory roles for CD14 and phosphatidylinositol in the signaling via Toll-like receptor 4 – MD-2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 268: 172–7.
- Hoshino K., Takeuchi O., Kawai T. et al. Toll-like receptor 4 deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR-4 as the *Ips* gene product. *J. Immunol.* 1999; 162: 3749–52.
- Qureshi S.T., Lariviere L., Leveque G. et al. Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr 4). *J. Exp. Med.* 1999; 189: 615–25.
- Shimazu R., Akashi S., Ogata H. et al. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.* 1999; 189: 1777–82.
- Lagunes-Servin H., Torres J., Maldonado-Bernal C. et al. Toll-like receptors and cytokines are upregulated during *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter.* 2013; 18 (6): 423–32.
- Hirschfield M., Weis J.J., Toshchakov V. et al. Signalling by Toll-like receptor 2 and 4 agonists results in differential gene expression in murine macrophages. *Infect. Immun.* 2001; 69: 1477–82.
- Werts C., Tapping R.I., Mathison J.C. et al. Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. *Nature Immunol.* 2001; 2: 346–52.
- Laude-Scharp M., Haeflner-Cavaillon N., Caroff M. et al. Dissociation between the interleukin 1 – inducing capacity and limulus reactivity of lipopolysaccharides from gram-negative bacteria. *Cytokine.* 1990; 2: 253–8.
- Morrison D.C., Ulevitch R.J. The effects of bacterial endotoxins on host mediation systems. *Am. J. Pathol.* 1978; 93 (2): 526–617.
- Ulevitch R.J., Tobias P.S. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu. Rev. Immunol.* 1995; 13: 437–57.
- Marshall J.C. Lipopolysaccharide: an endotoxin or an exogenous hormone? *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41 (7): S470–80.
- Пак С.Г., Грачев С.В., Белая О.Ф. и др. Патогенетические аспекты синдрома интоксикации в клинической картине инфекционных заболеваний. *Вестник РАМН.* 2008; 11: 33–41.
- West M.A., Heagy W. Endotoxin tolerance: a review. *Crit. Care Med.* 2002; 30 (1): S64–73.
- Burkart V., Kim Y.E., Hartmann B. et al. Cholera toxin B pretreatment of macrophages and monocytes diminishes their proinflammatory responsiveness to lipopolysaccharide. *J. Immunol.* 2002; 168 (4): 1730–7.
- Dalpe A.H., Heeg K. Synergistic and antagonistic interactions between LPS and superantigens. *J. Endotoxin Res.* 2003; 9 (1): 51–4.
- Fernandez-Miyakawa M.E., Brero M.L., Mateo N.A. Cholera toxin modulates the systemic immune responses against *Vibrio cholera* surface antigens after repeated inoculations. *Microbiol. Immun.* 2006; 50 (8): 607–19.
- Sanchez-Hutado K., Poxton I.R. Enhancement of the cytotoxic activity of *Clostridium difficile* toxin A by surface-associated antigens. *J. Med. Microbiol.* 2008; 57 (6): 739–44.
- Erwert R.D., Winn R.K., Harlan J.M., Bannerman D.D. Shiga-like toxin inhibition of FLICE-like inhibitory protein expression sensitizes endothelial cells to bacterial lipopolysaccharide-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (43): 40567–74.
- Гюлазян Н.М., Белая О.Ф., Пак С.Г. Частота и уровень выявления маркера Шига-токсина при различных вариантах течения острых кишечных инфекций. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2008; 4: 42–5.
- Белая О.Ф., Черкасвов В.Л., Тимакова В.П., Титовец И.И. Диагностическая ценность коаггутинации и скринингового теста клеточной миграции при кишечных инфекциях. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 1997; 4: 12–6.
- Зуевская С.Н., Белая О.Ф., Кокорева Л.Н., Подуэктова В.Б., Туркадзе К.А. Корреляция уровней антигена Шига токсина в циркулирующих иммунных комплексах и показателей О-антигенной нагрузки у больных острыми вирусными гепатитами. *Инфекционные болезни.* 2012; 10 (Прил. 1): 155–6.
- Белая О.Ф., Пак С.Г. Пути совершенствования лабораторной

диагностики инфекционных заболеваний. Вестник РАМН. 2010; 11: 50–3.

40. McCabe W.R. Endotoxin: microbiological, chemical, pathophysiological and clinical correlations. *Semin. Infect. Dis.* 1980; 3: 38–88.
41. Малов В.А., Грачев С.В., Нехаев С.Г. и др. Динамика уровней некоторых белков острой фазы и липополисахарид-связывающая активность для нейтрофилов периферической крови у больных с острыми кишечными инфекциями. *Терапевтический архив.* 1996; 11: 23–7.
42. Opal S.M., Scannon P.J., Vincent J.-L. et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. *J. Infect. Dis.* 1999; 180: 1584–89.
43. Покровский В.И., Гордиенко С.П., Литвинова В.И., ред. *Инфекционная антигенемия. Иммунология инфекционного процесса: Руководство для врачей.* М.: РАМН; 1994.
44. Воронов А.В., Малов В.А., Пак С.Г. и др. Иммуноферментный метод определения О-антигена шигелл Зонне с использованием аффинно выделенных антител. *Лабораторное дело.* 1989; 9: 66–70.
45. Черкасов В.Л., Еровиченков А.А., Рубцов И.В. Определение активности сывороточных антител в сопоставлении с инфекционной О-антигенемией у больных паратифом В. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1987; 5: 61–4.
46. Белая Ю.А., Белая О.Ф., Николаева Л.Г., Быстрова С.М. Диагностическая ценность реакции коагулирования у больных с диарейным синдромом. *Журнал гигиены, эпидемиологии, микробиологии и иммунологии (Прага).* 1989; 2: 183–90.
47. Бунин К.В., Белая О.Ф., Юсова Г.А. и др. Специфические антигены возбудителей и антитела к ним в составе циркулирующих иммунных комплексов при острой дизентерии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1985; 8: 78–80.
48. Gragg S.E., Loneragan G.H., Nightingale K.K. et al. Substantial within-animal diversity of *Salmonella* isolates from lymph nodes, feces, and hides of cattle at slaughter. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79 (15): 4744–50.
49. Малов В.А., Воронов А.В., Серебряков М.Ю. и др. Особенности экскреции с мочой соматического антигена шигелл у больных острой дизентерией. В кн.: *Материалы III Всероссийского съезда инфекционистов «Синдром интоксикации в инфекционной патологии».* М.; Смоленск; 1989: 50–2.
50. Черкасов В.Л., Белая О.Ф., Лиенко А.Б. и др. Скрининговое выявление антигенов некоторых патогенных энтеробактерий в биологических жидкостях у больных с хроническими заболеваниями кишечника. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1993; 5: 78–82.
51. Пак С.Г., Белая О.Ф., Малов В.А., Волчкова Е.В., Еровиченков А.А. Опыт и перспективы изучения синдрома интоксикации в инфекционной патологии. *Журнал инфектологии.* 2009; 1 (1): 9–12.
52. Белая Ю.А., Белая О.Ф., Перепелкин В.С. Диагностическая ценность реакции коагулирования при тифо-паратифозных заболеваниях. *Военно-медицинский журнал.* 1987; 7: 36–9.
53. Парфенов А.И., Ручкина И.Н., Атауллаханов Р.И., Белая О.Ф. и др. Постинфекционный синдром раздраженного кишечника. *Терапевтический архив.* 2009; 81 (2): 39–44.
54. Зуевская С.Н., Белая О.Ф., Волчкова Е.В., Андрейкайте Н.А. Маркеры возбудителей кишечных инфекций у больных острыми вирусными гепатитами с холестатическим синдромом. *Терапевтический архив.* 2011; 83 (11): 34–8.
55. Бунин К.В., Белая О.Ф. Определение антигенов шигелл и сальмонелл реакцией коагулирования у больных острыми кишечными инфекционными заболеваниями. *Советская медицина.* 1981; 5: 2–9.
56. Rossignol D., Lynn M., Wittek A., Rose J. Elevated plasma levels of limulus amoebocyte lysate – reactive material. *J. Infect. Dis.* 2006; 194: 1340.
57. Клинико-лабораторная диагностика инфекционных болезней / Финюгеев Ю.П., Лобзин Ю.В., Винакмен Ю.А. и др. под ред. Ю.В. Лобзина, СПб: Фолиант; 2001.

REFERENCES

1. Caroff M., Karibian D., Cavaillon J.-M., Haeffner-Cavaillon N. Structural and functional analyses of bacterial lipopolysaccharides. *Microb. Infect.* 2002; 4: 915–26.
2. Erridge C., Bennett-Guerrero E., Poxton I.R. Structure and function of lipopolysaccharides. *Microb. Infect.* 2002; 4: 837–51.
3. Deiters U., Gumenscheimer M., Galanos C., Mühlradt P.F. Toll-like receptor 2- and 6-mediated stimulation by macrophage-activating lipopeptide 2 induces lipopolysaccharide (LPS) cross tolerance in mice, which results in protection from tumor necrosis factor alpha but in only partial protection from lethal LPS doses. *Infect. Immun.* 2003; 71: 4456–62.
4. Gutschmann T., Müller M., Carroll S.F. et al. Dual role of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein in neutralization of LPS and enhancement of LPS-induced activation of mononuclear cells. *Infect. Immun.* 2001; 69: 6942–50.
5. Hajishengallis G., Martin M., Schifferle R.E., Genco R.J. Counteracting interactions between lipopolysaccharide molecules with differential activation of Toll-like receptors. *Infect. Immun.* 2002; 70: 6658–64.
6. Hamann L., Alexander C., Stamme C. et al. Acute-phase concentrations of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein inhibit innate immune cell activation by different LPS chemotypes via different mechanisms. *Infect. Immun.* 2005; 73: 193–200.
7. Iwagaki A., Porro M., Pollack M. Influence of synthetic antiendotoxin peptides on lipopolysaccharide (LPS) recognition and LPS-induced proinflammatory cytokine responses by cells expressing membrane-bound CD14. *Infect. Immun.* 2000; 68: 1655–63.
8. Levels J.H.M., Abraham P.R., van den Ende A., van Deventer S.J.H. Distribution and kinetics of lipoprotein-bound endotoxin. *Infect. Immun.* 2001; 69: 2821–8.
9. Suzuki M., Hisamatsu T., Podolsky D.K. Gamma interferon augments the intracellular pathway for lipopolysaccharide (LPS) recognition in human intestinal epithelial cells through coordinated up-regulation of LPS uptake and expression of the intracellular Toll-like receptor 4-MD-2 complex. *Infect. Immun.* 2003; 71: 3503–11.
10. Varma T.K., Toliver-Kinsky T.E., Lin C.Y. et al. Cellular mechanisms that cause suppressed gamma interferon secretion in endotoxin-tolerant mice. *Infect. Immun.* 2001; 69: 5249–63.
11. Rietschel E.T., Kirikae T., Schade F.U. et al. The chemical structure of bacterial endotoxin in relation to bioactivity. *Immunobiology.* 1993; 187: 169–90.
12. Din Z.Z., Mukerjee P., Kastowsky M., Takayama K. Effect on solubility and ionic state of lipopolysaccharide obtained from the deep rough mutant of *E. coli*. *Biochemistry.* 1993; 32 (17): 4579–86.
13. Bäckhed F., Normark S., Schweda E.K.H. et al. Structural requirements for TLR4-mediated LPS signalling: a biological role for LPS modifications. *Microb. Infect.* 2003; 5: 1057–63.
14. Takada H., Kotani S. Bacterial endotoxic lipopolysaccharides. In: *Morrisson D.C., Ryan J.L., eds. Bacterial endotoxic lipopolysaccharides.* Boca Raton :CRC Press; 1992: 107–34.
15. Perera P.Y., Mayadas T.N., Takeuchi O. et al. CD11b/CD18 acts in concert with CD14 and Toll-like receptor (TLR) 4 to elicit full lipopolysaccharide and taxol-inducible gene expression. *J. Immunol.* 2001; 166: 574–81.
16. Munford R.S. Sensing gram-negative bacterial lipopolysaccharides: A human disease determinant? *Infect. Immun.* 2008; 76 (2): 454–65.
17. Götz A., Orso G., Rothe G., Schmitz G. Ligand specific heteromeric CD14-clustering in inflammation. *J. Endotoxin Res.* 2000; 6: 106–10.
18. Akashi S., Ogata H., Kirikae F. et al. Regulatory roles for CD14 and phosphatidylinositol in the signaling via Toll-like receptor 4 – MD-2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 268: 172–7.
19. Hoshino K., Takeuchi O., Kawai T. et al. Toll-like receptor 4 deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR-4 as the *lps* gene product. *J. Immunol.* 1999; 162: 3749–52.
20. Qureshi S.T., Lariviere L., Leveque G. et al. Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr 4). *J. Exp. Med.* 1999; 189: 615–25.
21. Shimazu R., Akashi S., Ogata H. et al. MD-2, a molecule that

- confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.* 1999; 189: 1777–82.
22. Lagunes-Servin H., Torres J., Maldonado-Bernal C. et al. Toll-like receptors and cytokines are upregulated during *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter*. 2013; 18 (6): 423–32.
 23. Hirschfield M., Weis J.J., Tschachkov V. et al. Signalling by Toll-like receptor 2 and 4 agonists results in differential gene expression in murine macrophages. *Infect. Immun.* 2001; 69: 1477–82.
 24. Werts C., Tapping R.I., Mathison J.C. et al. Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. *Nature Immunol.* 2001; 2: 346–52.
 25. Laude-Sharp M., Haeffner-Cavaillon N., Caroff M. et al. Dissociation between the interleukin 1 – inducing capacity and limulus reactivity of lipopolysaccharides from gram-negative bacteria. *Cytokine*. 1990; 2: 253–8.
 26. Morrison D.C., Ulevitch R.J. The effects of bacterial endotoxins on host mediation systems. *Am. J. Pathol.* 1978; 93 (2): 526–617.
 27. Ulevitch R.J., Tobias P.S. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu. Rev. Immunol.* 1995; 13: 437–57.
 28. Marshall J.C. Lipopolysaccharide: an endotoxin or an exogenous hormone? *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41 (7): S470–80.
 29. Pak S.G., Grachev S.V., Belaya O.F. et al. Pathogenetic aspects of intoxication syndrome in the clinical picture of infectious diseases. *Vestnik RAMN.* 2008; 11: 33–41 (in Russian).
 30. West M.A., Heagy W. Endotoxin tolerance: a review. *Crit. Care Med.* 2002; 30 (1): S64–73.
 31. Burkart V., Kim Y.E., Hartmann B. et al. Cholera toxin B pretreatment of macrophages and monocytes diminishes their proinflammatory responsiveness to lipopolysaccharide. *J. Immunol.* 2002; 168 (4): 1730–7.
 32. Dalpke A.H., Heeg K. Synergistic and antagonistic interactions between LPS and superantigens. *J. Endotoxin Res.* 2003; 9 (1): 51–4.
 33. Fernandez-Miyakawa M.E., Brero M.L., Mateo N.A. Cholera toxin modulates the systemic immune responses against *Vibrio cholera* surface antigens after repeated inoculations. *Microbiol. Immun.* 2006; 50 (8): 607–19.
 34. Sanchez-Hutado K., Poxton I.R. Enhancement of the cytotoxic activity of *Clostridium difficile* toxin A by surface-associated antigens. *J. Med. Microbiol.* 2008; 57 (6): 739–44.
 35. Erwert R.D., Winn R.K., Harlan J.M., Bannerman D.D. Shiga-like toxin inhibition of FLICE-like inhibitory protein expression sensitizes endothelial cells to bacterial lipopolysaccharide-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (43): 40567–74.
 36. Gyulazyan N.M., Belaya O.F., Pak S.G. The frequency and level of detection of Shiga-toxin marker in different types of the course of acute intestinal infections. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni.* 2008; 4: 42–5 (in Russian).
 37. Belaya O.F., Cherkasov V.L., Timakova V.P., Titovets I.I. The diagnostic significance of coagglutination and screening test of cell migration in intestinal infections. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni.* 1997; 4: 12–6 (in Russian).
 38. Zuevskaya S.N., Belaya O.F., Kokoreva L.N., Poluektova V.B., Turkadze K.A. The correlation of Shiga toxin antigen levels in circulating immune complexes and indicators of O-antigen load in patients with acute viral hepatitis. *Infeksionnye bolezni.* 2012; 10 (1): 155–6 (in Russian).
 39. Belaya O.F., Pak S.G. Approaches to improvement of laboratory diagnosis of infectious diseases. *Vestnik RAMN.* 2010; 11: 50–3 (in Russian).
 40. McCabe W.R. Endotoxin: microbiological, chemical, pathophysiological and clinical correlations. *Semin. Infect. Dis.* 1980; 3: 38–88.
 41. Malov V.A., Grachev S.V., Nekhaev S.G. et al. The dynamic levels of acute-phase proteins and of the lipopolysaccharide-binding activity of the peripheral blood neutrophils in patients with acute intestinal infections. *Terapevticheskiy arkhiv.* 1996; 11: 23–7 (in Russian).
 42. Opal S.M., Scannon P.J., Vincent J.-L. et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. *J. Infect. Dis.* 1999; 180: 1584–89.
 43. Pokrovskiy V.I., Gordienko S.P., Litvinova V.I., ed. Infectious an-
tigenemia. Immunology of infectious process. A doctor's guide. Moscow: RAMN; 1994 (in Russian).
 44. Voronov A.V., Malov V.A., Pak S.G. et al. An immunoenzyme method for determining the O-antigen of *Sonne's shigella* with the use of affinity isolated antibodies. *Laboratornoye Delo.* 1989; 9: 66–70 (in Russian).
 45. Cherkasov V.L., Erovichenkov A.A., Rubtsov I.V. Determination of serum antibody avidity compared to infectious O-antigenemia in paratyphoid B patients. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1987; 5: 61–4 (in Russian).
 46. Belaya Yu.A., Belaya O.F., Nikolaeva L.G., Bystrova S.M. Diagnostic significance of the coagglutination reaction in patients with the diarrhoea syndrome. *Zhurnal gigiyeny, epidemiologii, mikrobiologii i immunologii (Prague).* 1989; 2: 183–90 (in Russian).
 47. Bunin K.V., Belaya O.F., Yusova G.A. et al. Specific antigens of the causative agents and their antibodies in the circulating immune complexes in acute dysentery. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1985; 8: 78–80 (in Russian).
 48. Gragg S.E., Loneragan G.H., Nightingale K.K. et al. Substantial within-animal diversity of *Salmonella* isolates from lymph nodes, feces, and hides of cattle at slaughter. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79 (15): 4744–50.
 49. Malov V.A., Voronov A.V., Serebryakov M.Yu. et al. The features of urinary excretion of shigella somatic antigen in patients with acute dysentery. In: *Materialy III Vserossiyskogo s'ezda infektionistov "Sindrom intoksikatsii v infeksionnoy patologii"*. Moscow; Smolensk; 1989: 50–2 (in Russian).
 50. Cherkasov V.L., Belaya O.F., Lienko A.B. et al. The screening detection of the antigens of pathogenic enterobacteria in the biological fluids of patients with chronic intestinal diseases. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1993; 5: 78–82 (in Russian).
 51. Pak S.G., Belaya O.F., Malov V.A., Volchkova E.V., Erovichenkov A.A. The experience and prospects of studying the intoxication syndrome in infectious pathology. *Zhurnal infektologii.* 2009; 1 (1): 9–12 (in Russian).
 52. Belaya Yu.A., Belaya O.F., Perepelkin V.S. Diagnostic value of the slide coagglutination reaction in typhoid-paratyphoid diseases. *Voenno-meditsinskiy zhurnal.* 1987; 7: 36–9 (in Russian).
 53. Parfenov A.I., Ruchkina I.N., Ataulkhanov R.I., Belaya O.F. et al. Post-infectious irritable bowel syndrome. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2009; 81 (2): 39–44 (in Russian).
 54. Zuevskaya S.N., Belaya O.F., Volchkova E.V., Andrekayte N.A. Markers of intestinal infection agents in patients with acute viral hepatitis with cholestatic syndrome. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2011; 83 (11): 34–8 (in Russian).
 55. Bunin K.V., Belaya O.F. Determination of *Shigella* and *Salmonella* antigens by the coagglutination reaction in patients with acute intestinal infectious diseases. *Sovetskaya meditsina.* 1981; 5: 2–9 (in Russian).
 56. Rossignol D., Lynn M., Wittek A., Rose J. Elevated plasma levels of limulus amoebocyte lysate – reactive material. *J. Infect. Dis.* 2006; 194: 1340.
 57. Finogeev Yu.P., Lobzin Yu.V., Vinakmen Yu.A. et al. Clinical and laboratory diagnosis of infectious diseases. Lobzin Yu.V., ed. Saint Petersburg: Foliant; 2001 (in Russian).

Поступила 06.02.14

Received 06.02.14

Сведения об авторах:

Белая Ольга Федоровна, д-р мед. наук, проф., зав. лаб. по изучению токсических и септических состояний НИИ молекулярной медицины ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова; **Малов Валерий Анатольевич**, д-р мед. наук, проф. каф. инфекционных болезней Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; **Пак Сергей Григорьевич**, д-р мед. наук, проф., член-корр. РАМН, почетный зав. каф. инфекционных болезней МПФ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова; **Волчкова Елена Васильевна**, д-р мед. наук, зав. каф. инфекционных болезней МПФ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.36-002.1-022.6-078.33

Белая О.Ф., Зувевская С.Н., Паевская О.А., Юдина Ю.В., Волчкова Е.В., Пак С.Г.

СЕЗОННЫЕ КОЛЕБАНИЯ МАРКЕРОВ *H. PYLORI* У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ

ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

*При изучении динамики факторов патогенности *H. pylori* (ЛПС/О-антигена, маркеров *VacA* и высокомолекулярных белков (ВМБ) (включая *CagA*) в организме больных острыми вирусными гепатитами (ОВГ) разной этиологии установлены сезонные особенности выявления в кале и циркулирующих иммунных комплексах (ЦИК) сыворотки крови ЛПС/О-антигена *H. pylori* и маркеров *VacA* и ВМБ в составе ЦИК. Частота выявления и уровни маркеров *H. pylori* у больных, перенесших ОВГ в январе-апреле, превышали их показатели у больных, перенесших ОВГ в мае-августе. Мы считаем, что эти данные необходимо учитывать при оценке результатов диагностики хеликобактерной инфекции и результатов эрадикационной терапии.*

Ключевые слова: острые вирусные гепатиты; *Helicobacter pylori*; ЛПС; О-антигены; вакуолизирующий токсин; высокомолекулярные белки; коагулирование; факторы патогенности; сезонность.

O.F. Belaya, S.N. Zuevskaya, O.A. Paevskaaya, Yu.V. Yudina, E.V. Volchkova, S.G. Pak

SEASONAL FLUCTUATIONS OF *H. PYLORI* MARKERS IN PATIENTS WITH ACUTE VIRAL HEPATITIS

State budget Educational Institution of Higher Professional Education I.M. Setchenov First Moscow State Medical University of Health Ministry, 119991, Moscow, Russian Federation

*Under investigation of the dynamics of pathogenicity factors *H. pylori* (LPS/O-antigen markers *VacA* and high molecular weight proteins (HMWP) (including *CagA*) in the body of patients with acute viral hepatitis (AVH) of different etiology there were established seasonal patterns in feces and serum circulating immune complexes (CIC): LPS/O-antigen markers and *H. pylori VacA* included in CIC. The detection rate and levels of markers of *H. pylori* in patients who had AVH in January–April exceeded similar indices in patients who had AVH in May–August. We believe that these data should be considered in the assessment of the results of the diagnosis of *H. pylori* and results of eradication therapy.*

Key words: acute viral hepatitis; *Helicobacter pylori*; LPS; O-antigens; vacuolating toxin; high molecular weight proteins; coagglutination; pathogenicity factors; seasonality.

Helicobacter pylori (*Hp*) является частью индигенной биоты желудка, эта грамотрицательная бактерия может посылать и принимать сигналы от клеточных компонентов в слизистой желудка, модулировать иммунный ответ и клеточные процессы хозяина, что позволяет хозяину и бактерии существовать в динамическом равновесии [1, 2]. Избирательная колонизация *Hp* эпителия желудка вызывает развитие хронического воспаления слизистой оболочки и признана безусловным фактором развития рака желудка и МАЛТ-лимфомы [3, 4]. В последние годы появились новые данные о *Hp*, стратегии вирулентности этого микроба, активности важных бактериальных детерминант, непосредственно взаимодействующих с клетками и тканями хозяина и модулирующих разнообразные факторы хозяина, – ЛПС, секретируемых белках *CagA* и *VacA*, адгезинах и др. [2, 3, 5–12]. В частности, установлено присутствие *Hp* в ткани печени, желчного пузыря, желчных ходах и

однонаправленное влияние этого микроба и вирусов гепатита при острых и хронических вирусных гепатитах и злокачественной трансформации [3, 7, 8, 10].

Как известно, интоксикационный синдром при многих инфекционных и неинфекционных заболеваниях обусловлен липополисахаридами грамотрицательной флоры и другими сходными с ними по действию патогенассоциированными молекулами (РАМРs), он отягощает течение и вирусных инфекционных заболеваний, например вирусных гепатитов [13]. В ранее проведенных исследованиях мы установили значительное присутствие ЛПС/О-антигена *Hp* при интоксикации, наблюдаемой при острых вирусных гепатитах (ОВГ) с холестатическим синдромом, в том числе снижение формирования специфических иммунных комплексов в крови, состоящих из IgG-антител и ЛПС/О-антигенов сопутствующей патогенной флоры кишечника [14]. Экспериментально показано, что даже хроническая низкодозовая стимуляция ЛПС *Hp* может примировать нейтрофилы в слизистой желудка, стимулированной другими медиаторами, к избыточному выбросу вредных веществ [15]. Наряду с ЛПС/О-

Для корреспонденции: Белая Ольга Федоровна, д-р мед. наук, проф., зав. лаб. по изучению токсических и септических состояний НИИ Молекулярной медицины ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, ofbelaya@mail.ru

антигеном *Hp* представляется интересным и необходимым изучение присутствия других факторов патогенности – вакуолизирующего цитотоксина *VacA* и онкопротеина *СagA* у больных ОВГ.

Целью работы являлось изучение сезонных особенностей выявления ЛПС/О-антигена, *VacA* и высокомолекулярных белков – ВМБ (включающих *СagA*) в кале и в циркулирующих иммунных комплексах (ЦИК) сыворотки крови у больных ОВГ.

Материалы и методы

Всего было обследовано 90 больных ОВГ желтушной формы разной этиологии (HBV – 37; HCV – 6; HAV – 17; миксты – 30 (HDV + HCV – 11; HBV + HCV – 18; HAV + HBV – 1). Из них у 30 человек выявлен холестатический синдром (далее – холестаза). В качестве контрольной группы обследовано 42 практически здоровых донора крови. Больные были обследованы многократно (3–6 раз) на протяжении острого периода и в периоде ранней реконвалесценции, от больных исследовали пробы кала и ЦИК, выделенных из сыворотки крови.

В биосредах пациентов были тестированы ЛПС/О-антигены *S. sonnei*, *S. flexneri* 1–5, *S. newcastle*; *Salmonella* В, С1, С2, D, Е-серогрупп; *Y. pseudotuberculosis* I, III, *Y. enterocolitica* O3, O9, O7,8, O4,33, O6,30; *E. coli* O157; *Campylobacter* (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*); *Hp*, а также присутствие комплекса ВМБ (в том числе *СagA*) и маркера *VacA* *Hp* (антительные диагностикумы для постановки реакции коагулирования на стеклах и планшетах были любезно изготовлены в НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России) [16–18].

Примененная реакция коагулирования (РКА) основана на способности белка А золотистого стафилококка соединяться с Fc-фрагментом иммуноглобулинов IgG_{1,2,4}. Полученный антительный диагностический свободными Fab-фрагментами иммуноглобулинов соединяется со специфическими антигенами, что проявляется феноменом агглютинации стафилококков. Реакция видна невооруженным глазом, легко учитывается. Для выявления в качестве маркеров различных возбудителей термостабильных ЛПС/О-антигенов использовали РКА на стекле, для выявления маркеров (антигенов) ВМБ и *VacA* *Hp* – РКА на иммунологических планшетах. Подготовка проб и постановка реакции подробно описаны ранее [8].

Статистическая обработка данных проведена по программе Biostatistica для IBM PC с расчетом параметрических и непараметрических критериев Стьюдента и χ^2 .

Результаты и обсуждение

По частоте выявления в копрофильтратах ЛПС/О-антигены *Hp* занимали 1-е место (57,7% от общего числа 81,4% лиц, у которых были выявлены антигены сальмонелл, йерсиний, шигелл), при этом у больных ОВГ с холестазом положительные реакции на ЛПС/О-антиген *Hp* выявлены досто-

верно чаще, чем в группе больных без холестаза ($p < 0,01$).

У доноров крови О-антигены разных возбудителей выявлены в копрофильтратах лишь у 16,6% обследованных (из них ЛПС/О-антигены *Hp* в 9,2%, что достоверно отличается от частоты их выявления у больных ОВГ ($p < 0,01$).

В ЦИК сыворотки крови ЛПС/О-антиген *Hp* выявлен всего в 16,7%, при этом в группе больных с холестазом – в 32%, без холестаза – достоверно ниже, в 7,1% случаев ($p \leq 0,05$).

Эти данные свидетельствуют о том, что в целом наблюдается невысокое «включение» ЛПС/О-антигена *Hp* в специфические иммунные комплексы, и только при высокой антигенной нагрузке в кале (у больных ОВГ с холестазом) они выявляются в составе ЦИК у трети больных.

С целью изучения частоты обнаружения других факторов – *VacA*-цитотоксина и комплекса ВМБ-маркеров островка патогенности, включая *СagA* (имеющих большое значение в патогенезе хеликобактерной инфекции), было обследовано 39 больных ОВГ различной этиологии. Из этого числа больных маркер *VacA* в составе ЦИК сыворотки крови выявлен у 49,5%, ВМБ – достоверно чаще, у 72,7% ($p < 0,05$). Частота выявления маркера ВМБ у больных ОВГ с синдромом холестаза и без него в составе ЦИК была также выше (80,5 и 68% соответственно), чем *VacA* (61 и 43% соответственно) ($p < 0,05$).

В течение календарного года средняя частота выявления О-антигена была достоверно выше у больных, перенесших заболевание в январе–апреле (в 72,5% проб кала) в сравнении с перенесшими заболевание ОВГ в мае–августе (52,5%; $p = 0,023$). В составе ЦИК сыворотки крови также более частое выявление О-антигена отмечено в январе–апреле (в среднем 43,8%), а мае–августе – реже (в среднем 9,5%; $p \leq 0,001$).

Маркер *VacA* *Hp* найден в составе ЦИК сыворотки крови в январе–апреле в 40,9% проб, в мае–августе в 26% ($p \leq 0,05$), это соотношение сохранялось и в отдельных группах больных с холестатическим синдромом и без него. В ходе желтушного периода у больных ОВГ, наблюдавшихся нами в январе–апреле, на 1-й неделе желтухи уровень маркера *VacA* составлял $0,25 \pm 0,05$ (lg 10 обратного титра антигена), затем достоверно повышался к периоду разгара желтухи до $0,50 \pm 0,07$ ($p_1 = 0,006$) и далее, в период стихания желтухи, – до $0,53 \pm 0,075$ (до уровня, достоверно более высокого, чем на 1-й неделе желтухи ($p_1 \leq 0,05$)). У больных, перенесших ОВГ в мае–августе, уровень *VacA*-антигена в ЦИК на 1-й неделе желтухи составлял $0,27 \pm 0,095$, затем незначительно повышался до $0,40 \pm 0,11$, а затем снижался до $0,15 \pm 0,087$, становясь достоверно ниже уровня у больных предыдущей группы ($p = 0,017$).

В отличие от маркера *VacA* в ЦИК маркеры ВМБ у больных ОВГ встречались с одинаковой частотой в январе–апреле и мае–августе. Но при этом уровень ВМБ в составе ЦИК был выше, чем *VacA*, и у боль-

ных ОВГ в январе–апреле отмечалось его достоверное нарастание к периоду разгара желтухи в сравнении с 1-й неделей желтухи ($p_1 \leq 0,002$), в то время как при заболевании в мае–августе его уровень на протяжении желтушного периода был достаточно монотонным.

Полученные данные о более высокой частоте выявления ЛПС/О-антигена в кале и ЦИК и маркера VacA *Hp* в ЦИК у больных, перенесших ОВГ в январе–апреле, по сравнению с перенесшими его в мае–августе могут свидетельствовать о более интенсивной жизнедеятельности *Hp* в зимне-весенние месяцы года, а именно – его размножении в организме и продукции важного токсина. Вероятно, это связано с ослаблением клеточного иммунитета на фоне вирусного поражения печени у больных ОВГ, протекающего на фоне сопутствующего инфицирования *Hp*.

Нам не удалось проследить сезонность в выявлении маркеров *Hp* в контрольной группе здоровых доноров крови, однако в целом тенденции выявления маркеров *Hp* у больных ОВГ соответствовали сезонным колебаниям О-антигена у практически здорового населения, по данным литературы [19].

Полученные данные соответствуют существующим представлениям о типичных сезонных обострениях язвенной болезни и отражают, видимо, возможные сезонные колебания фонового состояния общего иммунитета.

Заключение

В результате проведенного исследования установлено, что частота выявления ЛПС/О-антигена, а также частота выявления и уровни маркера VacA *Hp* у больных ОВГ различаются в желтушном периоде заболевания в зависимости от сезона года, в котором протекает заболевание, их показатели выше в зимне-весенние месяцы года (январь–апрель) по сравнению с летним периодом (май–август). Частота выявления ЛПС/О-антигена и маркера VacA *Hp* у больных ОВГ значительно превышает таковую у практически здоровых лиц (доноров крови). Мы считаем, что эти данные необходимо учитывать при оценке результатов диагностики хеликобактерной инфекции и результатов эрадикационной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Blaser M.J. Helicobacters are indigenous to the human stomach: duodenal ulceration is due to changes in gastric microecology in the modern era. *Gut*. 1998; 43 (5): 721–7.
2. Peek R.M.Jr, Fiske C., Wilson K.T. Role of innate immunity in Helicobacter pylori-induced gastric malignancy. *Physiol. Rev.* 2010; 90 (3): 831–58.
3. Chen R., Chen X.P., Lin B.L. et al. Status of H. pylori infection in the hepatic tissue of patients with hepatocarcinoma. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2010; 30 (5): 1028–30.
4. Yokota S., Okabayashi T., Rehli M. et al. Helicobacter pylori lipopolysaccharides upregulate toll-like receptor 4 expression and proliferation of gastric epithelial cells via the MEK 1/2-ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway. *Infect. and Immun.* 2010; 78 (1): 468–76.
5. Delahay R.M., Ruge M. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter*. 2012; 7 (Suppl. 1): 9–15.
6. Kim I.J., Blanke S.R. Remodeling the host environment:

- modulation of the gastric epithelium by the Helicobacter pylori vacuolating toxin (VacA). *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2012; 2 (37): 1–18.
7. Mamun-Al-Mahtab. State of the globe: Helicobacter pylori and hepatitis C together hamper health. *J. Glob. Infect. Dis.* 2010; 2 (1): 1–3.
8. Huang Y., Tian X.F., Fan X.G. et al. The pathological effect of Helicobacter pylori infection on liver tissues in mice. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009; 15 (9): 843–9.
9. Stark R.M., Gerwig G.J., Pitman R.S. et al. Biofilm formation by Helicobacter pylori. *Lett. Appl. Microb.* 1999; 28 (2): 121–6.
10. Zhou D., Zhang Y., Gong W. et al. Are Helicobacter pylori and other Helicobacter species infection associated with human biliary lithiasis? A meta-analysis. *PLoS One*. 2011; 6: e27390.
11. Ricci V., Romano M., Bouquet P. Molecular cross-talk between Helicobacter pylori and human gastric mucosa. *Gastroenterology*. 2011; 17 (11): 1383–99.
12. Israel D.A., Peek R.M. Surreptitious manipulation of the human host by Helicobacter pylori. *Gut Microbes*. 2010; 1 (2): 119–27.
13. Пак С.Г., Белая О.Ф., Малов В.А., Волчкова Е.В., Еровиченков А.А. Опыт и перспективы изучения синдрома интоксикации в инфекционной патологии. *Журнал инфектологии*. 2009; 1 (1): 9–17.
14. Зуевская С.Н., Белая О.Ф., Паевская О.А., Белая Ю.А., Пак С.Г. Выявление маркеров *H. pylori* у больных острыми вирусными гепатитами. *Журнал инфектологии*. 2011; 3 (1): 32–8.
15. Nielsen H., Birkholz S., Andersen L.P., Moran A. Neutrophil activation by Helicobacter pylori lipopolysaccharides. *J. Infect. Dis.* 1994; 170 (1): 135–9.
16. Белая Ю.А., Белая О.Ф., Петрухин В.Г. Способ получения диагностикумов для выявления антигенов Helicobacter pylori в реакции коагуляции. Патент RU № 2186394, 31 января 2001 г.
17. Белая Ю.А., Вахрамеева М.С., Белый Ю.Ф., Белая О.Ф., Петрухин В.Г. Способ получения тест-системы для определения антигенов цитотоксинассоциированных белков Helicobacter pylori в биологическом материале инфицированных лиц реакцией коагуляции. Патент RU 2232989. Зарег. в Госреестре изобретений № 20, 2004 г.
18. Белый Ю.Ф., Шеклакова Л.А., Вахрамеева М. С., Жуховицкий В.Г., Петрухин В.Г., Белая Ю.А. Получение рекомбинантного фрагмента белка VacA Helicobacter pylori и разработка на его основе неинвазивного метода диагностики хеликобактериоза. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2005; 1: 32–5.
19. Белая Ю.А., Белая О.Ф., Петрухин В.Г., Быстрова С.М., Вахрамеева М.С., Евдокимов В.В. Циклические колебания частоты встречаемости антигенов Helicobacter pylori в организме. В кн.: *Фундаментальные и прикладные проблемы науки*. Т. 5: Материалы VIII Международного симпозиума. М., 2013: 129–35.

REFERENCES

1. Blaser M.J. Helicobacters are indigenous to the human stomach: duodenal ulceration is due to changes in gastric microecology in the modern era. *Gut*. 1998; 43 (5): 721–7.
2. Peek R.M.Jr, Fiske C., Wilson K.T. Role of innate immunity in Helicobacter pylori-induced gastric malignancy. *Physiol. Rev.* 2010; 90 (3): 831–58.
3. Chen R., Chen X.P., Lin B.L. et al. Status of H. pylori infection in the hepatic tissue of patients with hepatocarcinoma. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2010; 30 (5): 1028–30.
4. Yokota S., Okabayashi T., Rehli M. et al. Helicobacter pylori lipopolysaccharides upregulate toll-like receptor 4 expression and proliferation of gastric epithelial cells via the MEK 1/2-ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway. *Infect. and Immun.* 2010; 78 (1): 468–76.
5. Delahay R.M., Ruge M. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter*. 2012; 7 (Suppl. 1): 9–15.
6. Kim I.J., Blanke S.R. Remodeling the host environment: modulation of the gastric epithelium by the Helicobacter pylori vacuolating toxin (VacA). *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2012; 2 (37): 1–18.

7. Mamun-Al-Mahtab. State of the globe: Helicobacter pylori and hepatitis C together hamper health. *J. Glob. Infect. Dis.* 2010; 2 (1): 1–3.
8. Huang Y., Tian X.F., Fan X.G. et al. The pathological effect of Helicobacter pylori infection on liver tissues in mice. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009; 15 (9): 843–9.
9. Stark R.M., Gerwig G.J., Pitman R.S. et al. Biofilm formation by Helicobacter pylori. *Lett. Appl. Microb.* 1999; 28 (2): 121–6.
10. Zhou D., Zhang Y., Gong W. et al. Are Helicobacter pylori and other Helicobacter species infection associated with human biliary lithiasis? A meta-analysis. *PLoS One.* 2011; 6: e27390.
11. Ricci V., Romano M., Bouquet P. Molecular cross-talk between Helicobacter pylori and human gastric mucosa. *Gastroenterology.* 2011; 17 (11): 1383–99.
12. Israel D.A., Peek R.M. Surreptitious manipulation of the human host by Helicobacter pylori. *Gut Microbes.* 2010; 1 (2): 119–27.
13. Pak S.G., Belaya O.F., Malov V.A., Volchkova E.V., Erovtchenkov A.A. Experience and perspectives for the study of intoxication syndrome in infectious pathology. *Zhurnal infektologii.* 2009; 1 (1): 9–17 (in Russian).
14. Zuevskaya S.N., Belaya O.F., Paevskaya O.A., Belaya Yu.A., Pak S.G. Revealing of H. pylori markers at patients with acute viral hepatitis. *Zhurnal infektologii.* 2011; 3 (1): 32–8 (in Russian).
15. Nielsen H., Birkholz S., Andersen L.P., Moran A. Neutrophil activation by Helicobacter pylori lipopolysaccharides. *J. Infect. Dis.* 1994; 170 (1): 135–9.
16. Belaya Yu.A., Belaya O.F., Petrukhin V.G. A method for producing diagnostic kits for Helicobacter pylori antigen detection in the coagglutination reaction. Patent Ru 2186394, 31.01.2001 (in Russian).
17. Belaya Yu.A., Vakhrameyeva M.S., Belyi Yu.F., Belaya O.F., Petrukhin V.G. Method for producing diagnostic kits for Helicobacter pylori antigen detection in the coagglutination reaction. Patent Ru 2232989, 2004 (in Russian).
18. Belyi Yu.F., Cheklakova L.A., Vakhrameyeva M.S., Zhukhovitskiy V.G., Petrukhin V.G., Belaya Yu.A. et al. Preparation of recombinant protein of fragment VacA Helicobacter pylori and development on the basis of its noninvasive methods of diagnosis Helicobacteriosis. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2005; 1: 32–5 (in Russian).
19. Belaya Yu.A., Belaya O.F., Petrukhin V.G., Bystrova S.M., Vakhrameyeva M.S., Evdokimov V.V. Cyclical fluctuations in the frequency of occurrence of Helicobacter pylori antigens in the body. In: *Fundamental'nyie i prikladnyie problemy nauki. Vol. 5: Materialy VIII Mezhdunarodnogo simpoziuma.* Moscow; 2013: 129–35 (in Russian).

Поступила 11.02.14

Received 11.02.14

Сведения об авторах:

Зуевская Светлана Николаевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. по изучению токсических и септических состояний НИИ молекулярной медицины ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова; **Паевская Ольга Александровна**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. по изучению токсических и септических состояний НИИ молекулярной медицины ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова; **Юдина Юлия Владимировна**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. по изучению токсических и септических состояний НИИ молекулярной медицины ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова; **Волчкова Елена Васильевна**, д-р мед. наук, проф., зав. каф. инфекционных болезней МПФ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, **Пак Сергей Григорьевич**, д-р мед. наук, проф., член-корр. РАМН, Почетный зав. каф. инфекционных болезней МПФ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.98:578.833.28]-078(470.312)

Бутенко А.М.¹, Козлова А.А.¹, Ларичев В.Ф.¹, Дзагурова Т.К.², Пантюхова Р.А.³, Важненкова Н.С.⁴, Карлова В.М.⁴, Василькова О.И.⁵

ЛИХОРАДКА ЗАПАДНОГО НИЛА В ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

¹ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 16; ²ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова» РАМН, 142782, поселение Московский, поселок Института полиомиелита, 27 км Киевского шоссе; ³ГУЗ «Тульская областная клиническая больница», 300053, г. Тула, ул. Яблочкова, 1а; ⁴ГУЗ «Городская больница № 2» г. Тулы, 300002, г. Тула, ул. Комсомольская, 1; ⁵Управление Роспотребнадзора по Тульской области, 300045, г. Тула, ул. Оборонная, 114

В результате серологического обследования (в ИФА-IgM, ИФА-IgG и реакции нейтрализации) 143 сыворотки крови 132 больных острыми лихорадочными заболеваниями неясной этиологии, госпитализированных летом 2012 г. в лечебные учреждения Тулы, впервые в Туле и Тульской области были диагностированы 4 случая лихорадки Западного Нила. Возраст больных составлял 42, 60, 62 и 64 года. Все они заболели в августе 2012 г. Температура достигала 39–40°C. Продолжительность болезни от 13 до 20 дней, продолжительность госпитализации 8–17 дней. Неврологическая симптоматика наблюдалась у двух пациентов в виде менингеального синдрома и энцефалопатии с астенической симптоматикой (у одного) и слабовыраженным менингеальным синдромом (у другого).

Ключевые слова: лихорадка Западного Нила; г. Тула и Тульская область; серологическая верификация.

Для корреспонденции: **Бутенко Александр Михайлович**, д-р биол. наук, проф., зав. отделом арбовирусов и лабораторией биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» МЗ РФ, e-mail: arboelisa@mail.ru.

¹D.I. Ivanovsky Institute of Virology, 123098, Gamalei str, 16, Moscow, Russian Fed., ²M.P. Chumakov Institute of poliomyelitis and viral encephalities, 142782, Settlement of Institute of poliomyelitis, 27 km Kiev highway, ³Tula regional clinical hospital, 300053, Tula, Yablochkova str., 1a; ⁴Tula city hospital № 2, Tula, 300002, Komsomol str., 1; ⁵Regional Department of Federal service on customers' rights protection and human well-being surveillance in Tula region, 300045, Tula, Oboronnaya str., 114

As a result of serological testing (MAC-ELISA, ELISA-IgG and neutralization test) 143 sera from 132 patients with acute febrile disease of unknown etiology hospitalized in summer 2012 in the hospitals of Tula, the first time in Tula and the Tula region were diagnosed 4 cases of West Nile fever. The age of patients was 42, 60, 62 and 64. They all got sick in August 2012. The temperature reached 39–40°C. Duration of disease from 13 to 20 days, the duration of hospitalization from 8 to 17 days. Neurological symptoms were observed in two patients in the form of meningeal syndrome and encephalopathy with asthenic symptoms (in one case) and faint meningeal syndrome (in another).

Key words: West Nile fever; Tula and the Tula region; serological verification.

Вирус Западного Нила (ЗН) впервые в СССР был выделен из преимаго клещей *Hyalomma marginatum* (бывшее название – *H. plumbeum*), собранных в 1963 г. в Астраханской области [1]. В 1967 г. в результате вирусологического обследования крови 29 больных острыми лихорадочными заболеваниями там же было выделено 3 штамма вируса ЗН – ЛЗН. При серологическом обследовании других 43 пациентов удалось верифицировать еще 8 случаев лихорадки ЗН [2, 3]. В период с 1990 по 1998 г. в Астраханской области было выявлено 27 подтвержденных случаев [4]. В 1999 г. первая эпидемическая вспышка ЛЗН наблюдалась в южном регионе Европейской части России, когда в Астраханской, Волгоградской областях и Краснодарском крае было зарегистрировано 560 лабораторно подтвержденных случаев. Следующая значительная вспышка (510 больных) наблюдалась на этой территории в 2010 г.

За последние 14 лет (с 1999 по 2013 гг.) в восьми административных регионах России (интернет-информация Роспотребнадзора и других источников) было выявлено 2316 случаев ЛЗН, в том числе 1253 в Волгоградской области, 544 в Астраханской*, 212 в Ростовской, 104 в Краснодарском крае, 103 в Воронежской области, 38 в Липецкой, 39 в Саратовской, 18 в Самарской, 5 в Белгородской области.

В 2012 и 2013 гг. в ряде диагностических лабораторий России применялись ИФА-тест-системы фирмы «Евроиммуно», которые, по отзывам авторитетных специалистов региональных центров гигиены и эпидемиологии, не отвечают нужным требованиям специфичности. Поэтому данные Роспотребнадзора о выявлении единичных случаев ЛЗН в таких регионах, как Татарстан, Пермский край, Новосибирская, Омская и Челябинская области (2012), а также Карелия, Калужская, Омская, Оренбургская области и Адыгея (2013), требуют тщательной коллегиальной верификации. Включенные в статистику заболеваемости за 2013 г. 3 случая лихорадки ЗН у российских граждан, вернувшихся из Таиланда в Новосибирск ($n = 2$) и Челябинск ($n = 1$), скорее всего являются случаями лихорадки денге. Дифференциальная

серологическая диагностика этих инфекций представляет определенные трудности и может быть выполнена только в условиях специализированной лаборатории.

Данная статья посвящена описанию первых 4 случаев ЛЗН, наблюдавшихся в 2012 г. в Тульской области, граничащей с Московским регионом.

Материалы и методы серологического обследования больных

В лаборатории биологии и индикации арбовирусов НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского в 2013 г. было обследовано 143 сыворотки крови 132 больных острыми лихорадочными заболеваниями, госпитализированных в лечебные учреждения Тулы летом 2012 г. с целью проведения серодиагностики геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС). Эти пробы были предоставлены Т.К. Дзагуровой – заведующей лабораторией геморрагических лихорадок НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова. Ранее они были тестированы методом непрямой иммунофлюоресценции на ГЛПС и методом РМАЛ на лептоспироз с отрицательным результатом.

Метод ИФА для выявления специфических иммуноглобулинов М (ИФА-IgM, MAC-ELISA)

В лунках полистероловых 96-луночных планшетов сорбировали козьи антитела IgG ("Sigma", США), против μ -цепи иммуноглобулина человека. Затем последовательно вносили обследуемые сыворотки, сахарозо-ацетоновый антиген вируса ЗН (или нормальный контрольный антиген из мозга неинфицированных новорожденных белых мышей) и мышинные моноклональные антитела к вирусу ЗН, меченные пероксидазой хрена [5]. На каждом из этапов постановки ИФА-IgM реакционные компоненты инкубировали 1 ч при температуре 37°C, затем смесь тщательно промывали 0,01 М фосфатно-буферным раствором pH 7,4 с добавлением 0,15 М NaCl и 0,05% твина-20. Субстрат-индикаторной системой служил раствор тетраметилбензидина с 0,006% перекиси водорода (H₂O₂). Реакцию останавливали 2N раствором серной кислоты. Результаты реакции учитывали по величине оптической плотности (ОП) при длине волны 450 нм. В каждом опыте использовали специфичный антиген вируса ЗН и нормальный контроль-

*По другим данным – 544 случая (см. статью А.Р. Азарян и соавт. в этом номере).

ный антиген, а также контрольные IgM-положительные сыворотки больных ЛЗН. Реакцию считали положительной, если отношение экстинкции опытных и контрольных образцов составляло не менее 3,0 (при ОП₄₅₀ не ниже 0,3 для опытных образцов и не выше 0,1 в контроле).

Метод ИФА для выявления специфических иммуноглобулинов G (ИФА-IgG)

В лунках 96-луночных планшетов сорбировали поликлональные мышинные IgG к вирусу ЗН в карбонатно-бикарбонатном буфере (КББ) [5]. Затем вносили в следующей последовательности: блокирующий раствор 1% бычьего сывороточного альбумина, специфичный вирусный антиген (или нормальный контрольный антиген), обследуемые сыворотки и мышинные антитела к иммуноглобулинам IgG человека, меченные пероксидазой хрена (ГНЦ РФ «Институт иммунологии Федерального медико-биологического агентства», Москва). Результаты реакции учитывали так же, как при постановке МАС-ELISA.

Реакция нейтрализации

Реакцию нейтрализации выполняли микрометодом [6] в 96-луночных планшетах (фирма Costar) в перевиваемой культуре клеток VeroE6. Для заражения клеточной культуры использовали смесь десятикратных разведений обследуемых сывороток и суспензию мозга инфицированных мышей, содержащую 100 ЦПД₅₀ вируса ЗН. При постановке опытов включали следующие контроли: определение токсичности сывороток для клеток VeroE6, титрование исходной вирусосодержащей суспензии, контроль рабочей дозы вируса, контроль нейтрализации вируса с контрольной иммунной сывороткой. Результаты учитывали в течение 14 дней, просматривая лунки планшета в инвертируемом микроскопе. За титр антител принимали наибольшее разведение сыворотки, при котором наблюдалась защита культуры от 100 ЦПД₅₀ вируса.

Результаты и обсуждение

В сыворотке крови, взятой у больной К. на 11-й день болезни, были обнаружены IgM, IgG и нейтрализующие антитела к вирусу ЗН в титрах соответственно 1:3200, 1:3200 и 1:20, у больного О. на 14-й день болезни в титрах 1:12800, 1:1600 и 1:40. У больного П. на 10-й и 16-й дни после начала болезни в равных титрах (1:6400) выявлялись специфические IgM, нейтрализующие антитела (1:40) и сероконверсия IgM (от 1:800 до 1:3200). От больной А. были получены 3 пробы сыворотки: через 16, 23 и 387 дней после начала болезни. Титры IgM в I, II и III пробах составляли соответственно 1:3200, 1:3200 и < 1:50 (отрицательный результат при разведении 1:50), IgG – 1:3200, 1:3200, 1:3200, в РН ≤ 1:20, ≤ 1:20 (сомнительный (+) результат при разведении 1:20) и 1:320.

Подобная картина динамики IgM, IgG и ней-

трализующих антител (с учетом сроков обследования больных) является типичной для ЛЗН, а полученные данные бесспорно указывают на этиологическое значение вируса ЗН в этих случаях. В сыворотках крови трех пациентов (М., К. и О.Ю.) при отсутствии IgM к вирусу ЗН были обнаружены специфические IgG и нейтрализующие антитела. Результаты обследования всех проб на IgG к вирусу клещевого энцефалита оказались отрицательными (табл. 1).

Таким образом, в Туле и Тульской области впервые диагностированы 4 верифицированные случая ЛЗН, что указывает на происходящее расширение ареала ЛЗН. Наличие анамнестических IgG и нейтрализующих антител к вирусу ЗН (при отсутствии IgM) у 3 больных (местных жителей) подтверждает факт циркуляции вируса ЗН на территории области и свидетельствует об инфицировании этих пациентов в предыдущие годы.

Полученные данные позволяют дифференцировать выявленные случаи ЛЗН от клещевого энцефалита, вызываемого антигенно-родственным флавивирусом, эндемичным для многих территорий Европейской части страны, где встречаются клещи *Ixodes ricinus* и *I. persulcatus*.

Ниже приводятся выписки из историй болезни четырех пациентов.

Случай 1. (больной О.С.) 1952 г. рождения. Место жительства: Тула. Заболел 03.08.12. Госпитализирован в инфекционное отделение ГУЗ «Городская больница № 2 г. Тулы», где находился с 7 по 14 августа 2012 г. с диагнозом: острая вирусная инфекция, гипертермический менингеальный синдром; сопутствующий диагноз: дисметаболическая энцефалопатия с астенической рассеянной симптоматикой. Жалобы при обращении: головная боль, высокая температура, ломота в мышцах, суставах, тошнота. Анамнез заболевания: болен 5 дней, температура до 40°C. Артериальная гипертензия. Объективно при

Результаты обследования в ИФА-IgM, ИФА-IgG и РН сывороток крови больных с подозрением на ГЛПС из Тульской области (июнь–сентябрь 2012 г.) на антитела к вирусу Западного Нила

Больной	Дата заболевания	Дата взятия сывороток	Антитела к вирусу Западного Нила			IgG к вирусу клещевого энцефалита
			IgM	IgG	РН	
М.	02.07	04.07.2012	Отр.	1:800	1:20	Отр.
К.	?	31.07.2012	Отр.	1:320		Отр.
		03.08.2012	Отр.	1:320		
К.	03.08	13.08.2012	1:3200 1:12800	1:3200	1:20	Отр.
О.С.	03.08	13.08.21012	0	1:1600	1:40	Отр.
П.	18.08	27.08.2012	1:6400	1:800	1:40	Отр.
		03.09.2012	1:6400	1:3200	1:40	Отр.
А.	18.08	28.08.2012	1:3200	1:3200	1:20?*	Отр.
		04.09.2012	1:3200	1:3200	1:20?*	Отр.
		02.07.2013	Отр.	1:3200	1:320	Отр.
О.Ю.	?	03.09.2012	Отр.	1:400	1:20	Отр.

* 1:20? – сомнительный результат (+/-).

осмотре: температура 39,5°C, состояние тяжелое, сознание ясное, но на вопросы отвечает медленно и неуверенно, кожные покровы бледные со следами после гнойной сыпи. Зев чистый, периферические лимфоузлы не изменены, склеры субиктеричны, отеки отсутствуют. Дыхание равномерное, частота 20 в минуту, жесткое, хрипы отсутствуют, легочный звук не изменен. Тоны сердца приглушены, ритм правильный, АД 120/80 мм рт. ст. Язык влажный, обложен налетом, живот мягкий, безболезненный, печень безболезненная, уплотненная, выступает на 3 см, селезенка не увеличена. Симптом Пастернацкого отрицательный. Ригидность мышц затылка отсутствует, симптом Кернига сомнительный. ЭКГ: ритм синусовый, отклонение ЭОС смещено влево, ЧСС 103 в минуту.

Общий анализ крови

Дата	Эр.	Нв	Тр.	СОЭ	л.	П.	С.	Лимф.	Мон.
08.08.12	4,73	157	191	8	16	5	67	22	6
13.08.12	5,2	171	279	5	10		53	45	5

Гликемический профиль

Дата	8-00	11-00	16-00
08.08.12	4,1	4,9	7,0

Биохимия

Дата	Креатинин	Мочевина	Билирубин	АСТ	АЛТ	АЛР	ГГТ
08.08.12	130	5,7	19,1	34	33	138	37,2

Анализ мочи от 08.08.12, общий: удельный вес: 1015, белок 0,3, сахар 17.

Рентгенография легких от 08.08.12 без патологии.

Консультация невролога 07.08.12: дисметаболическая энцефалопатия с астенией, рассеянной симптоматикой; 08.08.12 состояние улучшилось, менингеальных знаков нет, диагноз тот же. При консультации эндокринолога патологии не выявлено.

УЗИ брюшной полости и почек от 13.08.12: диффузные изменения печени, хронический холецистит, диффузные изменения поджелудочной железы, уплотнение почечной ткани.

Состояние при выписке 14.08.12: температура с 09.08.12 субфебрильная, затем нормальная, состояние улучшилось, выписан под расписку.

Серологическое обследование на ГЛПС в реакции МФА от 13.08.12 и в РМАЛ на лептоспироз от 13.08.12 – с отрицательным результатом.

Эпидемиологический анамнез: проживает в центре Тулы в многоэтажном доме, отмечает подтопление подвальных помещений и наличие комаров. За 2 нед до заболевания выезжал в пос. Бородино Киреевского района Тульской области.

Случай 2. (б о л ь н а я К.) 1938 г. рождения. Место жительства: Тула. Заболела 03.08.12, когда появился озноб, слабость, температура до 40°C. С 7 по 21 августа находилась в инфекционном отделении ГУЗ «Городская больница № 2 г. Тулы» с диагнозом обострения хронического пиелонефрита. Жалобы при обращении: общая слабость, головокружение. Перенесенные и сопутствующие заболевания: грипп, ОРВИ, сахарный диабет 2-го типа, гипертоническая болезнь, хронический пиелонефрит, холецистэктомия в 1983 г. Объективно при осмотре: состояние средней тяжести, тип конституции гиперстенический, питание повышенное, кожные покровы бледные, зев чистый, периферические лимфатические узлы увеличены. Дыхание равномерное, ЧДД 20 в минуту, хрипы отсутствуют, легочный звук не изменен. Тоны сердца глухие, АД 130/80 мм рт. ст., ритм правильный. Живот правильной формы, мягкий, безболезненный, печень безболезненная, выступает на 1 см, селезенка не увеличена. Симптом Пастернацкого отрицательный. ЭКГ: ритм синусовый, отклонение ЭОС влево, ЧСС 103 в мин, изменения в верхней боковой стенке.

Общий анализ крови

Дата	Эр.	Нв	СОЭ	Л.	С.	Лимф.	Мон.
08.08.12	4,88	150	15	14,2	68	26	5
20.08.12	4,59		3	11,7			

Гликемический профиль

Дата	8.00	11.00	16.00
10.08.12	6,1	10,3	10,0
20.08.12	7,0	5,1	7,0

Биохимия

Дата	Креатинин	Мочевина	Билирубин	АСТ	АЛТ	Холестерин
08.08.12	173	7,73	8,9	42,5	48,9	7,73
20.08.12	123	8,63	7,0			

Анализ мочи от 10.08.12 общий: удельный вес 1025, белок +, сахар +, лейкоциты 20–30 в поле зрения.

Рентгенография легких от 10.08.12 без патологии.

УЗИ брюшной полости и почек: признаки жирового гепатоза, состояние после холецистэктомии, признаки хронического пиелонефрита, более выраженные слева.

Состояние при выписке удовлетворительное.

Серологическое обследование на ГЛПС в реакции МФА от 13.08.12 с отрицательным результатом.

Эпидемиологический анамнез: проживает в центре Тулы в многоэтажном доме, отмечает наличие комаров. Садово-огородного участка и загородного дома нет, из города летом не выезжала.

Случай 3. (б о л ь н о й П.), 1970 г. рождения. Место жительства: Тульская область, г. Донской. Дата заболевания 18.08.12. С 22.08 по 05.09.12 находился в инфекционном отделении ГУЗ «Тульская областная клиническая больница» с диагнозом ГЛПС средней тяжести. При поступлении жалобы на слабость, температура до 39°C.

Анамнез заболевания: заболел остро 18.08.12, температура до 39°C, слабость. 18.08. и 19.08.12 вызывал скорую помощь. 20.08.12 обратился к участковому терапевту. При осмотре неврологом, менингеальных симптомов не выявлено, 21.08.12 госпитализирован в инфекционное отделение ГУЗ «Донская городская больница» с диагнозом лихорадки неясной этиологии, 22.08.12 головная боль, температура 39°C, слабость, разбитость. 22.08.12 переведен в инфекционное отделение ГУЗ «Тульская областная клиническая больница».

Перенесенные заболевания: грипп, ОРВИ.

Объективно при осмотре: общее состояние средней тяжести, правильного телосложения, умеренного питания, кожные покровы и склеры обычной окраски, менингеальные знаки сомнительные, зев розовый, чистый, периферические лимфатические узлы не увеличены. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет. Тоны сердца ритмичные, приглушены, АД 196/60 мм рт. ст., пульс 72 в минуту. Живот мягкий, безболезненный, печень и селезенка не увеличены. Стул оформленный, мочеиспускание свободное, безболезненное, отеков нет.

Общий анализ крови

Дата	Эр	Нв	Тр	СОЭ	Л.	П.	С.	Мон.	Лимф.	Нт
22.08.12	5	151	167	33	11	79,5	0,6	4,6	14,5	151
03.09.12	4,91	150	247	11	6,2	52	1,6	7,5	33,8	150

Биохимия

Дата	Креатинин	Азот мочевины
03.09.12	86	5,81

Глюкоза 3,9 ммоль/л.

Общий анализ мочи от 24.08.12: реакция кислая, лейкоциты 0–2 в поле зрения, эритроциты 0–3 в поле зрения.

ЭКГ от 23.08.12: ритм правильный, вертикальное положение ЭОС.

УЗИ почек и надпочечников 28.08.12: признаки нефропатии.

Консультация невролога: данных, подтверждающих менингит нет, регрессирующий менингизм на фоне основного заболевания.

Серологическое обследование 30.08 и 03.09.12 на ГЛПС в реакции МФА и лептоспироз в РМАЛ с отрицательным результатом.

Эпидемиологический анамнез: проживает в г. Донском, есть дача. Со 2 по 14 августа 2012 г. выезжал в Абхазию на отдых.

Случай 4. (б о л ь н а я А.) 1948 г. рождения. Место жительства: Тула. Заболела 18.08.12, когда появился озноб. Температура до 39,5°C. Находилась на госпитализации в инфекционном отделении ГУЗ «Городская больница № 2 г. Тулы» с 21 августа по 6 сентября 2012 г. с диагнозом обострения хронического бронхита.

Жалобы при обращении: температура до 39,5°C, озноб, сухость во рту, слабость.

Перенесенные заболевания: артериальная гипертонзия, инфаркт миокарда. Объективно при осмотре: состояние – средней тяжести, сознание ясное, кожные покровы бледные, периферические лимфатические узлы не изменены. ЧДД 22 в минуту, дыхание везикулярное, ослабленное, хрипы сухие единичные. Ритм сердца правильный, ЧСС 60 в минуту, АД 150/80 мм рт. ст. Живот безболезненный, печень и селезенка не увеличены. Почки: симптом Пастернацкого отрицательный.

Общий анализ крови

Дата	Эр	Нв	СОЭ	Л.	П.	С.	Лимф.	Мон.
22.08.12	8,2	153	17	4,9	2	65	23	10
27.08.12	9,23	143	10	5,01	8	60	24	10

Биохимия

Дата	Креатинин	Мочевина	Холестерин
22.08.12	147	10,02	5,04
27.08.12.	153	5,57	
31.08.12	122	5,73	

Глюкоза 5,2.

Анализ мочи от 08.08.12 общий: удельный вес 1020, белок 0,1. Анализ по Зимницкому: удельный вес 1005–1015.

Рентгенография легких от 21.08 и 05.09.12 без патологии.

Серологическое обследование 28.08 и 04.09.12 на ГЛПС в реакции МФА и 04.09 на лептоспироз в РМАЛ – с отрицательным результатом.

Эпидемиологический анамнез: проживает в многоэтажном доме на окраине Тулы и на даче в Ленинском районе Тульской области. Летом 2012 г. за пределы области не выезжала.

В качестве заключения к представленным данным можно сказать, что больные ЛЗН в возрасте 42, 60, 62 и 64 года, инфицировались в течение августа 2012 г. в характерный для эндемичных регионов России период наибольшей активности циркуляции вируса ЗН. У этих пациентов отмечалась высокая температура (до 39–40°C). Продолжительность заболевания (от начала до выписки из больницы) составляла соответственно 13, 16, 19 и 20 дней; продолжительность госпитализации – 8, 12, 15 и 17 дней; диагнозы при госпитализации:

острая вирусная инфекция (случай 1), ГЛПС, лихорадка неясной этиологии (случай 2), обострение хронического пиелонефрита (случай 3), обострение хронического бронхита (случай 4). Неврологическая симптоматика у двух больных выражалась в наличии менингеального синдрома и энцефалопатии с астенической симптоматикой (случай 1) и слабовыраженным менингеальным синдромом (случай 2). Заражение больных (с учетом продолжительности инкубационного периода при ЛЗН) произошло через укусы комаров в Туле (случай 2), в Туле и Тульской области (случаи 1 и 4), в Туле или Аджарии (случай 3).

ЛИТЕРАТУРА

1. Чумаков М.П., Беляева А.П., Бутенко А.М., Мартыанова Л.И. Вирус Западного Нила в СССР. Сообщение 1. Выделение штаммов вируса Западного Нила из клещей *Hyalomma plumbeum plumbeum* Panz. В кн.: Эндемические вирусные инфекции: Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов. М.; 1968: 365–72.
2. Бутенко А.М., Чумаков М.П., Башкирцев В.Н., Ткаченко Е.А., Рубин С.Г., Столбов Д.Н. Новые данные об изучении инфекции Западного Нила в СССР (в Астраханской области). В кн.: Чумаков М.П., ред. Материалы Научной сессии Института полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР. М.; 1968; вып. 3: 175–6.
3. Лещинская Е.В., Башкирцев В.Н., Богомолов Б.П., Шатилова Н.Н., Мартыненко И.Н., Корнилова А.А. и др. Клиническая картина лихорадки Западного Нила в Астраханской области. В кн.: Чумаков М.П., ред. Материалы Научной сессии Института полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР. М.; 1968; вып. 3: 228–30.
4. Эпидемиологический надзор за лихорадкой Западного Нила в Астраханской области, Специфическая диагностика, меры общественной и личной профилактики. Методические указания. Астрахань; 2000.
5. Meegan J.M., Le Duc J.W. Enzyme immunoassays. In: Lee H.W., Dalrympe J.M., eds. Manual of hemorrhagic fever with renal syndrome. WHO Collaborating Center for Virus Reference and Research (hemorrhagic fever with renal syndrome). Institute for Viral Diseases, Korea University; 84–7.
6. Sullivan E.J., Rosenbaum H.J. Methods for preparing tissue culture in disposable microplates and their use in virology. Am. J. Epidemiol. 1967; 85 (7): 424–37.

REFERENCES

1. Chumakov M.P., Belvaeva A.P., Butenko A.M., Mart'yanova L.I., West Nile virus in the USSR. Communication 1. Isolation of West Nile virus strains from *Hyalomma plumbeum plumbeum* Panz. ticks. In: Endemical viral infections. Transaction of Institute of poliomyelitis and viral encephalitis. Moscow; 1968: 365–72 (in Russian).
2. Butenko A.M., Chumakov M.P., Bashkirtsev V.N., Tkachenko E.A., Rubin S.G., Stolbov D.N. New data on study of West Nile infection in the USSR (Astrakhan region). In: Proceedings of the XV scientific conference of Institute of poliomyelitis and viral encephalitis, October 21–25, 1968. Moscow; 1968: 175–6 (in Russian).
3. Leshchinskaya E.V., Bashkirtsev V.N., Bogomolov B.P., Schatilova N.N., Martinenko I.N., Kornilova A.A. et al. Clinical picture of West Nile fever in Astrakhan region. In: Proceedings of the XV scientific conference of Institute of poliomyelitis and viral encephalitis, October 21–25, 1968. Moscow; 1968: 228–30 (in Russian).
4. Epidemiological control for West Nile fever in Astrakhan region, Specific diagnosis, public and personal prophylaxis. Methodical directions. Astrakhan'; 2000 (in Russian).
5. Meegan J.M., Le Duc J.W. Enzyme immunoassays. In: Lee H.W., Dalrympe J.M., eds. Manual of hemorrhagic fever with renal syndrome. WHO Collaborating Center for Virus Reference and Research (hemorrhagic fever with renal syndrome). Institute for Viral Diseases, Korea University; 84–7.
6. Sullivan E.J., Rosenbaum H.J. Methods for preparing tissue culture in disposable microplates and their use in virology. Am. J. Epidemiol. 1967; 85 (7): 424–37.

Поступила 10.02.14

Received 10.02.14

Сведения об авторах:

Козлова Алина Александровна, науч. сотр. лаб. биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России; **Ларичев Виктор Филиппович**, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. биологии и индикации арбовирусов НИИ вирусологии им. Д. И.Ивановского Минздрава России; **Дзагурова Тамара Казбековна**, зав. лаб. геморрагических лихорадок НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов РАН, Москва, канд. мед. наук; **Пантюхова Раиса Алексеевна**, зав. инфекционным отделением ГУЗ «Тульская областная клиническая больница», гл. специалист по инфекционным болезням Минздрава Тульской области; **Важненко Наталья Степановна**, зав. инфекционным отд-нием; **Карлова Валерия Михайловна**, врач-ординатор инфекционного отд-ния «Городская больница № 2 г. Туль»; **Василькова Ольга Ивановна**, и. о. зам. начальника отд. эпид-надзора Управления Роспотребнадзора по Тульской области.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 579.843.1:579.253].083.1

Кульшань Т.А., Челдышова Н.Б., Гусева Н.П., Смирнова Н.И.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УЧАСТКОВ ГЕНОМА, СВЯЗАННЫХ С ВИРУЛЕНТНОСТЬЮ, У ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* КЛАССИЧЕСКОГО И ЭЛЬ ТОР-БИОВАРОВ

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 410005, Саратов, ул. Университетская, 46

*Методами ПЦР и фрагментарного секвенирования проведен сравнительный анализ участков генома, связанных с вирулентностью, у различных штаммов *V. cholerae*: классического биовара, а также типичных и генетически измененных штаммов биовара Эль Тор. Показано, что геном *V. cholerae* классического биовара более стабилен по сравнению с таковым *V. cholerae* Эль Тор. Установлено присутствие в геноме Эль Тор-вибрионов протяженных переменных участков, несущих гены патогенности. Обнаружено также, что в отличие от классических холерных вибрионов в геноме возбудителя холеры Эль Тор отсутствует CRISPR-система, ограничивающая горизонтальный перенос генов. Выявленные особенности структуры генома *V. cholerae* Эль Тор могут быть использованы для разработки нового поколения генодиагностических препаратов, а также для совершенствования молекулярно-эпидемиологического мониторинга при холере.*

Ключевые слова: возбудитель холеры; гены патогенности; изменчивость генома; CRISPR-система.

T. A. Kul'shan, N. B. Cheldyshova, N. P. Guseva, N. I. Smirnova

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE GENOME REGIONS ASSOCIATED WITH VIRULENCE IN ORIGINAL CLASSIC AND EL TOR BIOVAR OF *VIBRIO CHOLERAЕ* STRAINS

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya str., Saratov, Russian Federation, 410005

*The comparative analysis of the genome regions associated with virulence in various *V. cholerae* strains: classical biovar, as well as typical and genetically altered strains of El Tor biovar was performed with the use of PCR assays and fragment sequencing. *V. cholerae* classical biovar genome was demonstrated to be more stable in comparison with the same in *V. cholerae* El Tor biovar. Within the genome of El Tor vibrios there were identified extensive variable regions carrying pathogenicity genes. It was also found that unlike classical cholera vibrios, in the *V. cholerae* El Tor genome there is absent CRISPR-system limiting horizontal transfer of the genes. The obtained data concerning these structural peculiarities of *V. cholerae* El Tor genome may be used in the delivery of the new generations of gene-diagnostic preparations and for improvement of molecular-epidemiological monitoring in case of cholera.*

Key words: cholera agent; pathogenicity genes; genome variability; CRISPR-system.

Холера – особо опасная инфекционная болезнь, которая приводит к серьезному экономическому и социальному ущербу. Число больных холерой за последние 10 лет (2003–2012) составляет свыше 2 200 000 человек [4]. Возбудителем холеры являются *Vibrio cholerae* O1- и O139-серогрупп. Холерные вибрионы O1 серогруппы представлены двумя биоварами, отличающимися друг от друга по фенотипическим и генетическим свойствам: классическим, вызвавшим, видимо, первые шесть пандемий холеры, и биоваром Эль Тор, являющимся возбудителем текущей седьмой пандемии.

За время эволюции возбудитель холеры Эль Тор претерпел значительные изменения, чему во многом способствовало присутствие в его геноме значительного количества мобильных генетических элементов (МГЭ), таких как профаги (CTXφ и RS1φ), острова патогенности (VPI-1 и VPI-2), пандемичности (VSP-I и VSP-II) и персистенции (EPI), интегронный остров, а также транспозоны и IS-элементы [9, 21]. Благодаря пластичности генома возбудитель

холеры способен обитать в различных экологических нишах – в организме человека и водной среде. Кроме того, присутствие МГЭ делает геном *V. cholerae* нестабильным, что проявляется в утрате и/или приобретении новой генетической информации, включая гены вирулентности. Так, в начале 90-х годов прошлого столетия появились высоковирулентные геноварианты *V. cholerae* биовара Эль Тор [3, 7, 8, 19, 22, 23]. Эти штаммы отличались от типичных изолятов возбудителя присутствием в геноме профага CTXφ, кодирующего холерный токсин (СТ – от *cholera toxin*), гена *ctxB* классического типа (*ctxB1*), характерного для *V. cholerae* классического биовара. Несмотря на то что *V. cholerae* классического биовара к 1923 г. утратил эпидемическую значимость, этот возбудитель остается природным резервуаром генов патогенности. В то же время до сих пор отсутствуют полные данные о генетическом разнообразии штаммов возбудителя холеры этого биовара. Между тем такие сведения крайне необходимы для разработки нового поколения диагностических и профилактических препаратов, а также для оптимизации эпидемиологического надзора. В связи с этим цель работы состояла в проведении сравнительного анализа структуры участков генома, связанных с

Для корреспонденции: Кульшань Татьяна Алексеевна, канд. мед. наук, науч. сотр. ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», e-mail: rusrap1@microbe.ru

вирулентностью и жизнеобеспечением у природных штаммов *V. cholerae* O1.

Материалы и методы

В работе был использован 271 штамм холерного вибриона, из которых 40 штаммов относились к классическому биовару, выделенные в 1937–1962 гг. в России и ряде государств Азии (Афганистан, Пакистан, Индия, Китай, Корея), и 231 штамм принадлежал биовару Эль Тор, изолированных в 1970–2010 гг. в России, Украине и Узбекистане. Штаммы были получены из Государственной коллекции патогенных бактерий. Все штаммы выращивали на агаре LB, pH 7,2 в течение 16–18 ч при температуре 37°C.

Выделение бактериальной ДНК. ДНК выделяли из клеток *V. cholerae* стандартным методом [2]. Полученные образцы, содержащие тотальную ДНК холерного вибриона, использовали для амплификации фрагментов генов.

Полимеразную цепную реакцию проводили с помощью олигонуклеотидных праймеров, синтезированных в ЗАО «Синтол» (Россия) на программируемом амплификаторе «Терцик» («ДНК-Технология», Россия). Продукты, полученные в ПЦР, анализировали методом электрофореза в 2% агарозном геле. В качестве контроля молекулярной массы использовали коммерческие маркеры GenRuler TM 100 bp DNA Ladder (MBI Fermentas, Литва). Фотодокументирование результатов проводили в системе для геледокументации VersaDoc фирмы BIORAD (США) с использованием программы Quantity One v 4.6.9 (BIORAD, США).

Секвенирование геномной ДНК проводили на приборе 3500xL Genetic Analyzers (Applied Biosystems, США) по методу F. Sanger, 1977. Полученные последовательности анализировали с использованием программы Mega 5.0 и выравнивали с соответствующим участком прототипных последовательностей референтных штаммов *V. cholerae* N16961 биовара Эль Тор и *V. cholerae* O395 классического биовара, депонированных в базе данных GenBank.

Результаты и обсуждение

Поскольку совместное существование холерных вибрионов двух биоваров в эндемичных по холере регионах в течение довольно длительного периода могло привести к появлению ряда штаммов *V. cholerae* классического биовара с измененным геномом как за счет обмена генетической информацией с *V. cholerae* биовара Эль Тор, так и в результате накопления различных мутаций, возникающих под действием изменяющейся окружающей среды, на первом этапе работы методом ПЦР было определено присутствие в геноме 40 штаммов *V. cholerae* классического биовара 20 генов вирулентности и жизнеобеспечения, локализованных на семи МГЭ (табл. 1). Установлено, что у всех изученных штаммов присутствовали 15 тестируемых генов, локализованных в коровой части хромосомы (*toxR*, *hapA*, *rtxA*, *attRS*),

а также на четырех МГЭ – профаге CTXφ (*ctxA*, *zot*, *ace*), островах патогенности VPI-1 (*tcpA*, *toxT*, *aldA*, *mop*) и VPI-2 (*hel1760*, *nanH*, *rep1803*), островах персистенции EPI (*mshA*). Вместе с тем в их геноме отсутствовали 5 генов (*rstC*, *deo0175*, *tnp0185* и *vc0490*, *vc0496*), входящих в состав трех МГЭ (RS1φ, VSP-I и VSP-II). Поскольку указанные гены являются генетическими маркерами этих МГЭ, полученные данные означают отсутствие в геноме классических вибрионов профага RS1φ и острова

Таблица 1

Гены вирулентности и жизнеобеспечения

Место локализации	Название гена	Продукт или функция
Профаг CTXφ	<i>ctxA</i>	A-субъединица СТ
	<i>ctxB</i>	B-субъединица СТ
	P _{ctxAB}	Промотор <i>ctxAB</i>
	<i>zot</i>	Токсин зонального поглощения
	<i>ace</i>	Дополнительный СТ
Профаг RS1φ	<i>rstC</i>	Антирепрессор <i>rstR</i>
Остров патогенности VPI-1	<i>tcpA</i> ^{Eltor} / <i>tcpA</i> ^{Class}	Основная субъединица TCP классических и Эль Тор-вибрионов
	<i>toxT</i>	Регуляторный белок
	<i>aldA</i>	Альдолаза
	<i>mop</i>	Цинксодержащая периплазматическая протеаза
Остров патогенности VPI-2	<i>hel1760</i>	Хеликаза
	<i>nanH</i>	Нейраминидаза
	<i>rep1803</i>	Гипотетический белок
Остров пандемичности VSP-I	<i>deo0175</i>	Деоксицитидилат диаминазоподобный белок
	<i>tnp0185</i>	Транспозаза
Остров пандемичности VSP-II	<i>vc0490</i>	Связанный с плазмидой белок
	<i>vc0496</i>	Гипотетический белок
Остров персистенции EPI	<i>mshA</i>	Основная субъединица маннозочувствительных гемагглютинирующих пилей
Коровая область хромосомы	<i>attRS</i>	Сайт для внедрения в хромосому профага CTXφ
	<i>toxR</i>	Регуляторный белок
	<i>rtxA</i>	RTX-токсин
	<i>hapA</i>	Растворимая гемагглютинин-протеаза
SXT-генетический элемент	<i>dfrA</i>	Резистентность к триметоприму
	<i>strB</i>	Резистентность к стрептомицину
	<i>sulII</i>	Резистентность к сульфаметоксазолу
CRISPR-система	SXT	Область SXT-элемента
	<i>cas3</i>	Нуклеаза/хеликаза-ограничение горизонтального переноса генов

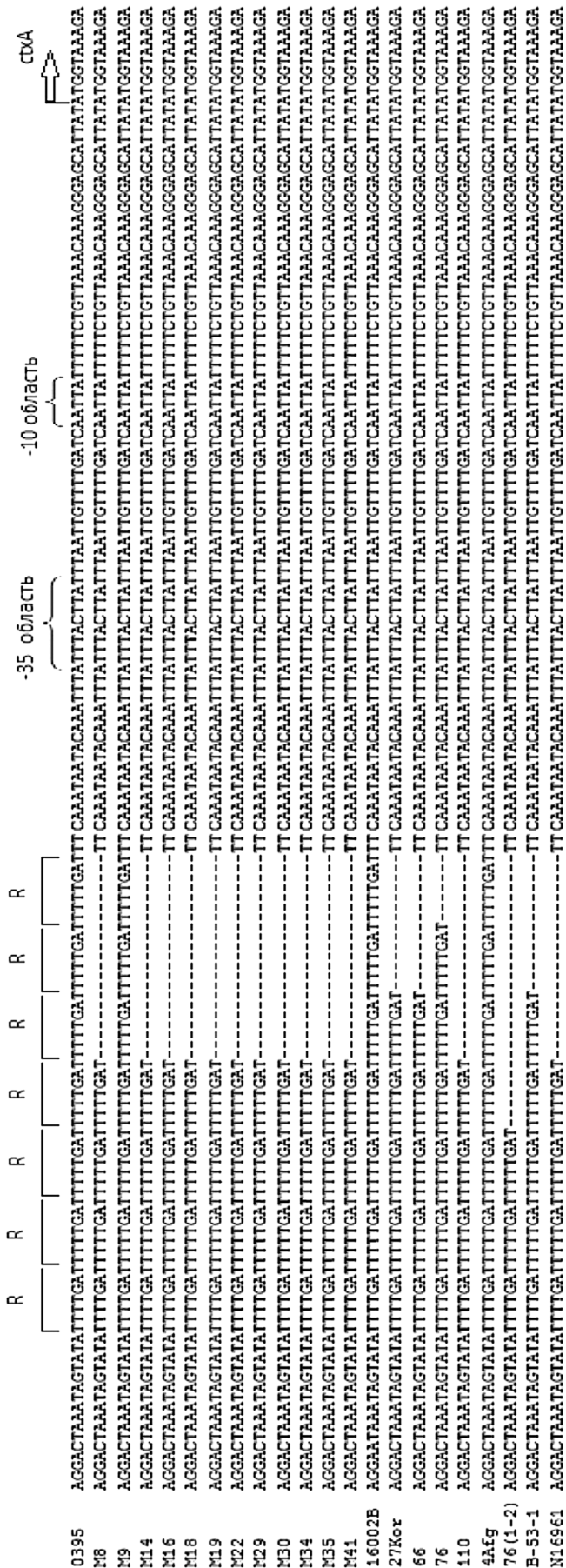


Рис. 1. Нуклеотидные последовательности промоторной области генов *ctxAB* классических штаммов *V. cholerae*. R означает нуклеотидную последовательность повторов TTTTGAT, являющихся сайтами связывания с регуляторным белком ToxR. O395 и N16961 – референсные штаммы *V. cholerae* соответственно классического и Эль Тор-биоваров (нуклеотидные последовательности взяты из GenBank). M8, M9, M14, M16, M18, M19, M22, M29, M30, M34, M41, 16002B, 27Koz, 66, 76, 110, 4Af9, 76(1-2), B-53-1 – штаммы классического биовара.

пандемичности VSP-II, что согласуется с данными зарубежных авторов [15, 24].

Несмотря на указанную стабильность набора генов вирулентности, патогенности и персистенции, штаммы холерного вибриона в процессе эволюции могли приобрести мутации в данных генах. Для решения этого вопроса мы провели сравнительный анализ нуклеотидной последовательности двух наиболее переменных участков профага СТХφ (гена *ctxB* и промоторной области оперона *ctxAB*) и гена *tcpA*, входящего в состав VPI-1 у 20 штаммов *V. cholerae* классического биовара, изолированных в разные временные периоды (1942–1962). При исследовании нуклеотидных последовательностей гена *ctxB*, кодирующего В-субъединицу СТ, было установлено, что все изученные штаммы содержали один и тот же аллель этого гена, а именно *ctxB1*, характерный для референсного штамма *V. cholerae* O395 классического биовара.

Что касается второго участка генома профага СТХφ – промоторной области оперона *ctxAB* (P_{ctxAB}), то ранее, до начала проведения наших экспериментов, было установлено, что классические вибрионы содержат в ней 7–8 копий повторов TTTTGAT. Вместе с тем в результате сравнения нуклеотидной последовательности промоторной области оперона *ctxAB* у 20 штаммов нами была выявлена их неоднородность. Оказалось, что лишь 3 из 20 изученных штаммов имели 7 копий гептаповторов. У 1 штамма было обнаружено 6 копий этой регуляторной последовательности. Следующая группа изолятов (3 штамма) содержала 5 копий TTTTGAT. Для самой большой группы штаммов (12 изолятов) было характерно присутствие в P_{ctxAB} четырех копий гептаповторов. И наконец, был обнаружен 1 штамм с тремя копиями TTTTGAT (рис. 1).

Секвенирование гена *tcpA*, кодирующего основную субъединицу токсин-корегулируемых пилей, у тех же 20 штаммов показало, что структура этого гена была идентична таковой референсного штамма O395 лишь у 5 штаммов, в то время как у 15 штаммов (или 75% от числа изученных) в гене *tcpA* в позиции 117 впервые была выявлена однонуклеотидная синонимичная замена гуанин на тимин (G/T) (рис. 2), которая не приводила к изменению белка TcpA.

Другая важная особенность возбудителя азиатской холеры состоит в том, что в его геноме имеется недавно описанная CRISPR-система (*Clustered Regularly Interspaced*

```

          10          20          110          120          660
O395  ATGCAATTAT  TAAAAACAGCT  TTCTAGGCAT  TATGGGGGTG  CCGCGTTGCA  TTTGGT
M8    .....
M9    .....
M14   .....
M16   .....
M18   .....
M19   .....
M22   .....
M29   .....
M30   .....
M34   .....
M35   .....
M41   .....
16002B .....
27Kor .....
66    .....
76    .....
110   .....
4Afg  .....
76(1-2) .....
B-53-1 .....
N16961 ATGCAATTAT  TAAAAACAGCT  TTCTGGGTAT  TATGGGTGTG  CACAGAAGTT  TTTGGT

```

Рис. 2. Нуклеотидная последовательность фрагментов гена *tcpA* изученных штаммов *V. cholerae* классического биовара. M8, M9, M14, M16, M18, M19, M22, M29, M30, M34, M35, M41, 1600B, 27Kor, 66, 76, 110, 4Afg, 76(1-2), B-53-1 – штаммы *V. cholerae* классического биовара; O395 и N16961 – референсные штаммы *V. cholerae* соответственно классического и Эль-Тор-биоваров, нуклеотидные последовательности гена *tcpA* которых представлены в GenBank. Идентичные нуклеотидные обозначены точками.

Shot Palindromic Repeats) [6,10,18]. Обнаружение ранее лишь у одного штамма этого биовара (*V. cholerae* O395) CRISPR-системы [14], которая защищает клетку от проникновения чужеродной ДНК, позволяет

предположить, что именно эта система могла быть одной из причин относительной стабильности генома возбудителя азиатской холеры. Для проверки этого предположения мы определили присутствие

Таблица 2

Генотипы природных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, выделенных в РФ, Украине и Узбекистане в период 7-й пандемии холеры

Характеристика генома																Количество штаммов	
CTXφ		VPI-I		VPI-II		VSP-I		VSP-II		EPI		CRISPR-система					
<i>ctxA</i>	<i>zot</i>	<i>rstC</i>	<i>tcpA</i>	<i>toxT</i>	<i>aldA</i>	<i>mop</i>	<i>nanH</i>	<i>tnp0185</i>	<i>vco0490</i>	<i>vco0496</i>	<i>mshA</i>	<i>hapA</i>	<i>cas3</i>	<i>strB</i>	<i>dfrA</i>	SXT	
Штаммы, выделенные от людей																	
Типичные штаммы, выделенные в 1970–1990 гг.																	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/н.о	-	20/17
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	н.о	-	1
-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	3
Измененные варианты, выделенные в 1988–2010 гг.																	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	15
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	8
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	н.о	н.о	11
Штаммы, выделенные из внешней среды																	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/н.о	-	12/13
-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	н.о	-	1
-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	н.о	-	1
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+/н.о	-	1/68
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+/н.о	-	1/15
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	н.о	-	8
-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	н.о	-	13
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	н.о	-	1
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	н.о	-	2
-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	н.о	-	1
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	н.о	-	2

CRISPR-системы в геноме 25 штаммов *V. cholerae* классического биовара. Для ПЦР-идентификации CRISPR-системы был выбран ген *cas3*, кодирующий нуклеазу/хеликазу, которая производит разрезание чужеродной ДНК и находится в непосредственной близости от CRISPR-кассеты. В результате было установлено присутствие гена *cas3* и, следовательно, CRISPR-системы в хромосоме всех 25 изученных штаммов *V. cholerae* классического биовара.

Таким образом, несмотря на давнее возникновение возбудителя азиатской холеры, изученные участки его генома в целом остаются стабильными, поскольку не было выявлено штаммов с утратой хотя бы одного из 15 тестируемых генов, размещенных как в коровой области хромосомы, так и на четырех указанных выше МГЭ. Это, возможно, обусловлено присутствием CRISPR-системы, ограничивающей горизонтальный перенос генов от неизвестных доноров в геном *V. cholerae* классического биовара. Вместе с тем представленные данные свидетельствуют о том, что штаммы холерного вибриона классического биовара различаются между собой по структуре промоторной области оперона *ctxAB*, а также гена *tcpA*, кодирующих ключевые факторы патогенности.

Далее с помощью ПЦР мы изучили присутствие тех же 25 генов в геноме 92 клинических штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, изолированных в 1970–2010 гг. на территории России, Украины и Узбекистана (табл. 2). Оказалось, что все тестируемые гены коровой области хромосомы (*toxR*, *hapA*, *rtxA*, *attRS*) присутствовали в хромосоме всех изученных штаммов. Что касается МГЭ, то в геноме 96% штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор помимо четырех геномных островов (CTXφ, VPI-1, VPI-2, EPI), обнаруженных у *V. cholerae* классического биовара, имелись три дополнительных генных блока – профаг RS1φ и два острова пандемичности VSP-I, VSP-II. Эти данные полностью совпадают с ранее опубликованными результатами и говорят о том, что возбудитель холеры Эль Тор, мог приобрести их в процессе эволюции через горизонтальный перенос генетической информации от неизвестных до сих пор доноров [16, 20]. В связи с этим особого внимания заслуживает тот факт, что, согласно нашим данным, ни один из исследованных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор не имел гена *cas3* и, следовательно, CRISPR-системы, которая могла бы ограничить горизонтальный перенос генов.

На следующем этапе нашей работы мы оценили вариабельность генома клинических штаммов *V. cholerae* Эль Тор-биовара. В результате исследования было установлено, что среди 92 штаммов 4 изолята были лишены профага CTXφ, кодирующего CT, либо несли дефектный профаг, не имеющий гена *ctxA*. К тому же один нетоксигенный штамм (M885) был лишен и второго профага RS1φ. Кроме того, у трех штаммов (M867, M868, M870) наряду с отсутствием гена *ctxA* из профага CTXφ не было

островов пандемичности VSP-I и VSP-II, а остров патогенности VPI-2 был дефектным, поскольку не содержал краевых генов *hel1740* и *rep1803* при наличии гена *nanH*.

Таким образом, генетическое разнообразие клинических штаммов *V. cholerae* Эль Тор выражалось в следующем: отсутствие профагов CTXφ и RS1φ, островов пандемичности VSP-I и VSP-II, а также наличие дефектного профага CTXφ и острова патогенности VPI-2. Это означает, что в отличие от *V. cholerae* классического биовара геном *V. cholerae* биовара Эль Тор является нестабильным за счет структурных изменений, связанных с мобильными элементами. При этом среди изученных МГЭ наиболее вариабельным оказался геном профага CTXφ.

Появление генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, несущих ген *ctxB1* (классического типа), отличающийся от *ctxB3* (характерный для Эль Тор-биовара) наличием двух однонуклеотидных замен в положениях 115 и 203 (C/T), привело к тому, что геноварианты стали более вирулентными по сравнению с типичными изолятами [19] и вытеснили типичные Эль Тор-штаммы во многих эндемичных по холере регионах, что определяет реальную возможность завоза данного возбудителя на территорию России [1, 3, 4, 7, 8]. В связи с этим на следующем этапе работы у изучаемых Эль Тор-штаммов было проведено секвенирование гена *ctxB* из профага CTXφ, которое показало, что все штаммы, выделенные на территории России после 1990 г. несли аллельный ген *ctxB1*, т. е. были геновариантами возбудителя холеры Эль Тор. Обнаружение в геноме изученных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор генов классического холерного вибриона подтверждает возникновение в современный период 7-й пандемии холеры природных генетически измененных штаммов ее возбудителя в результате горизонтального переноса генов холеры [7, 8, 11, 19, 23].

Особый интерес заслуживает вопрос о присутствии в геноме клинических штаммов возбудителя холеры Эль Тор SXT^{ET} – генетического элемента, ответственного за распространение бактериальных генов лекарственной устойчивости. В результате установлена четкая временная связь между обнаружением первого источника SXT^{M010} – генетического элемента - *V. cholerae* O139 и появлением штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор с множественной устойчивостью к лекарственным препаратам, кодируемым генами этого элемента. Так, штаммы, выделенные до 1993 г., были лишены данного элемента, в то время как все штаммы, выделенные позже, несли в своем геноме SXT-элемент с генами лекарственной устойчивости к сульфаметоксазолу, триметоприму и стрептомицину и были чувствительны к указанным препаратам, что согласуется с ранее полученными данными [5, 12] (см. табл. 2). Присутствие SXT-элемента в хромосоме всех исследованных нами генетически измененных штаммов *V. cholerae* биова-

ра Эль Тор, начиная с 1993 г., может означать, что в природных популяциях *V. cholerae* Эль Тор-биовара довольно часто происходил генетический обмен как с *V. cholerae* классического биовара, так и с *V. cholerae* O139.

Поскольку холерные вибрионы представляют собой группу бактерий, которые являются автохтонными для речных, прибрежных и устьевых экосистем, а водная среда выступает в качестве основного источника передачи данного возбудителя и способствуют обширным генетическим взаимодействиям между различными штаммами *V. cholerae* [13, 16], то на следующем этапе работы было изучено 139 штаммов, изолированных на разных территориях из водных источников (1970–2004). Обнаружено, что все исследованные штаммы были лишены SXT-генетического элемента и представляли собой три большие группы (см. табл. 2). В 1-ю группу входили 85 (61%) типично водных штаммов, содержащих лишь гены коровой области хромосомы (*rtxA*, *hapA*, *toxR*) и ген *mshA* острова персистенции, 72 из них содержали и ген *attRS*. 2-я группа содержала 25 (18%) штаммов, несущих в своем геноме, помимо генов коровой области хромосомы все МГЭ, кроме SXT – генетического элемента. 3-ю группу составляли 29 (21%) штаммов, претерпевших ряд геномных перестроек: 1) утрату генов профагов CTXφ и RS1φ (гены *ctxA*, *zot*, *ace*, *rstC*) – 3 штамма при наличии других тестируемых генов; 2) присутствие в геноме авирулентных штаммов гена *nanH* из ОП VPI-2 – 14 штаммов; 3) сохранение дефектных островов пандемичности VSP-I и VSP-II, так как в их геноме был выявлен один из генов, входящих в состав данных МГЭ – *deo0175*, *tnp0185*, *vco0490*, *vco0496* – 12 штаммов (см. табл. 2). Особенности генотипа таких штаммов подтверждают ранее высказанное предположение, что они могли произойти от вирулентных в результате утраты ими в водной среде МГЭ, несущих ключевые гены патогенности.

Таким образом, выявленный нами высокий уровень генетического разнообразия природных штаммов возбудителя холеры, изолированных из воды открытых водоемов, указывает на необходимость проведения постоянного молекулярно-эпидемиологического мониторинга внешней среды.

Заключение

В целом полученные данные о генетическом разнообразии штаммов возбудителя холеры двух биоваров с помощью ПЦР и метода секвенирования показали, что геном штаммов *V. cholerae* классического биовара, несмотря на более древнее происхождение, является более стабильным по сравнению с таковым *V. cholerae* биовара Эль Тор. Из восьми тестируемых мобильных элементов (CTXφ, RS1φ, VPI-1, VPI-2, VSP-I, VSP-II, EPI, SXT) в геноме всех проверенных штаммов этого возбудителя присутствует только четыре (CTXφ, VPI-1, VPI-2, EPI). Другая важная особенность этого возбудителя состоит в том, что в хромосоме всех штаммов *V. cholerae* классического

биовара имеется CRISPR-система, которая могла создать препятствия получению этим возбудителем дополнительной генетической информации через горизонтальный перенос генов. Вместе с тем мы впервые независимо от недавно проведенных исследований [3, 17] обнаружили у классических вибрионов вариативность двух участков генома, связанных с вирулентностью – промоторной области оперона *ctxAB* и гена *tcpA*, входящих в состав профага CTXφ и острова патогенности VPI-1, кодирующих биосинтез СТ и токсинорегулируемых пилей. Выявленная вариативность проявляется в разном количестве повторов TTTTGAT в промоторной области *ctxAB* у разных штаммов, а также однонуклеотидной синонимической замене в гене *tcpA* (G/T). Следствием такой изменчивости структуры генома классических вибрионов может быть различный уровень продукции СТ у разных штаммов.

Что касается эпидемически опасных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, то для их генома характерно наличие протяженных вариативных участков, в состав которых входят профаги CTXφ и RS1φ, остров патогенности VPI-2 и остров пандемичности VSP-II. Вариативность генома возбудителя холеры Эль Тор выражается в потере различных фрагментов ДНК, связанных с патогенностью и эпидемическим потенциалом. Другой важный механизм генетической изменчивости штаммов этого биовара – приобретение нового генетического материала через горизонтальный перенос. Эволюционно значимый результат таких событий – появление штаммов, несущих конъюгативный SXT-элемент с четырьмя генами устойчивости к лекарственным препаратам, а также возникновение геновариантов возбудителя с повышенной вирулентностью. Выявленное широкое генетическое разнообразие изученных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор может быть отражением различных экологических условий обитания, а также продолжающейся эволюции генома этого возбудителя.

Таким образом, проведенное исследование позволило получить более полные сведения о структуре генома значительного количества штаммов *V. cholerae* классического и Эль Тор-биоваров, выделенных на разных эндемичных по холере территориях и занесенных на территорию России. Эти сведения необходимы для разработки нового поколения холерных генодиагностических препаратов, а также могут быть использованы для совершенствования молекулярно-эпидемиологического мониторинга внешней среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Арешина О.А., Адаменко О.Л. Оценка эпидемиологической обстановки по холере в мире в современный период. Прогноз. Проблемы особо опасных инфекций. 2011; 1 (107): 16–9.
2. Методические указания (МУ) 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». М; 2010.

3. Миронова Л.В., Балахонов С.В., Урбанович Л.Я., Кожевникова А.С. и др. Молекулярно-генетический анализ эпидемически опасных штаммов *Vibrio cholerae* Eltor, изолированных в Сибирском и Дальневосточном регионах России. Молекулярная генетика, микробиология, вирусология. 2012; 2: 13 - 20.
4. Москвитина Э.А., Мазрухо А.Б., Адаменко О.Л., Кругликов В.Д. Холера в начале XXI века. Прогноз на глобальном уровне. Проблемы особо опасных инфекций. 2012; 1 (111): 11–16.
5. Подшивалова М.В., Захарова И.Б., Викторов Д.В., Алексеев В.В. Распространенность интегронов класса I и SXT-элементов в изолятах *Vibrio cholerae*, выделенных на территории Волгоградской области. В кн.: Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии. Ростов-н/Д; 2007; 20: 105–8.
6. Пугач К.С., Лопатина А.В., Северинов К.С. CRISPR-системы адаптивного иммунитета прокариот. Молекулярная биология. 2012; 46 (2): 195–203.
7. Савельев В.Н., Савельева И.В., Бабеньшев Б.В., Куличенко А.Н. Эволюция возбудителя и клинико-эпидемиологические особенности современной холеры Эль-Тор. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2012; 5: 31–5.
8. Смирнова Н.И., Заднова С.П., Шашкова А.В., Кутырев В.В. Вариабельность генома измененных вариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, завезенных на территорию России в современный период. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2011; 4: 11–8.
9. Смирнова Н.И., Кутырев В.В. Эволюция возбудителя холеры. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2004; 4: 3–13.
10. Шашкова А.В., Горяев А.А., Смирнова Н.И. Структура и функциональная роль CRISPR-системы бактерий. Проблемы особо опасных инфекций. 2011; 2 (108): 49–52.
11. Borkakoty B., Biswas D., Devi U. et al. Emergence of classical ctxB genotype 1 and tetracycline resistant strains of *Vibrio cholerae* O1 El Tor in Assam, India. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 2012; 106 (6): 382–6.
12. Burrus V., Quezada-Calvillo R., Marrero J. et al. SXT-related integrating conjugative element in New World *Vibrio cholerae*. Appl. Environ. Microbiol. 2006; 72 (4): 3054–7.
13. Chakraborti S., Mukhopadhyay A.K., Bhadra R.K. et al. Virulence genes in environmental strains of *Vibrio cholerae*. Appl. Environ. Microbiol. 2000; 66 (9) 4022–8.
14. Chakraborty S., Waise T.M.Z., Hassan F. et al. Assessment of the evolutionary origin and possibility of CRISPR-Cas (CASS) mediated RNA interference pathway in *Vibrio cholera* O395. In Silico Biol. 2009; 9 (4): 245–54.
15. Dziejman M., Balon E., Boydet D. et al. Comparative genomic analysis of *Vibrio cholerae*: genes that correlate with cholera endemic and pandemic disease. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002; 99: 1556–61.
16. Faruque S.M., Mekalanos J.J. Phage-bacterial interactions in the evolution of toxigenic *Vibrio cholerae*. Review. 2012; 3 (7): 1–10.
17. Halder K., Das B., Nair B. et al. Molecular evidence favouring step-wise evolution of Mozambique *Vibrio cholera* O1 El Tor hybrid strain. Microbiology. 2010; 156: 99–107.
18. Makarova K.S., Aravind L., Grishin N.V. et al. A DNA repair system specific for thermophilisarchaea and bacteria predicted by genomic context analysis. Nucl. Acids Res. 2009; 30: 482–96.
19. Morita M., Ohnishi M., Arakawa E. et al. Development and validation of a mismatch amplification mutation PCR assay to monitor the dissemination of an emerging variant of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor. Microbiol. and Immunol. 2008; 52 (6): 314–7.
20. Murphy R.A., Boyd E.F. Three pathogenicity islands of *Vibrio cholerae* can excise from the chromosome and form circular intermediates. J. Bacteriol. 2008; 190 (2): 636–47.
21. Mutreja A., Thomson N.R., Connor T.R. et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. Nature. 2011; 477: 462–5.
22. Nair G.B., Qadri F., Holmgren J., Svennerholm A.M. et al. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. J. Clin. Microbiol. 2006; 44: 4211–3.
23. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A. et al. New Variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. J. Clin. Microbiol. 2002; 40 (9): 3296–9.
24. O'Shea Y.A., Finnan S., Reen F.J. et al. The *Vibrio* seventh pandemic island-II is a 26,9 kb genomic island present in *Vibrio cholerae* El Tor and O139 serogroup isolates that shows homology to a 43,4 kb genomic island in *V. vulnificus*. Microbiology. 2004; 150: 4053–63.

REFERENCES

1. Lomov Yu.M., Moskvitina E.A., Areshina O.A., Adamenko O.L. Assessment of epidemiological situation for cholera in the world in the modern period. Plague. 2011; 1 (107): 16–9 (in Russian).
2. Metodicheskie ukazaniya (MU) 1.3.2569-09. Organization of the laboratories using nucleic acid amplification techniques when working with material containing microorganisms Groups I–IV pathogenicity. Moscow; 2010 (in Russian).
3. Mironova L.V., Balakhonov S.V., Urbanovich L.Ya., Kozhevnikova A.S. et al. Molecular genetic analysis of infectious strains of *Vibrio cholerae* Eltor, isolated in the Siberian and Far Eastern regions of Russia. Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya. 2012; 2: 13–20 (in Russian).
4. Moskvitina E.A., Mazrukho A.B., Adamenko O.L., Kругликов V.D. Cholera in the beginning of XXI century. Forecast at the global level. Plague. 2012; 1 (111): 11–6 (in Russian).
5. Podshivalova M.V., Zakharova I.B., Viktorov D.V., Alekseev V.V. The prevalence of class I integrons and SXT-elements in isolates of *Vibrio cholerae*, isolated in the Volgograd region. In: Cholera and human pathogenic vibrio. Materials probl. Commission. Rostov-na-Donu, 2007; 20: 105–8 (in Russian).
6. Pugach K.S., Lopatina A.V., Severinov K.S. CRISPR-adaptive immunity prokaryotes. Mol. biol. 2012; 46 (2): 195–203 (in Russian).
7. Savel'ev V.N., Savel'eva I.V., Babenyshev B.V., Kulichenko A.N. The evolution of the pathogen, clinical and epidemiological features of modern cholera El Tor. Epidemiology. inf. disease. 2012; 5: 31–5 (in Russian).
8. Smirnova N.I., Zadnova S.P., Shashkova A.V., Kutyrev V.V. The variability of the genome modified versions *Vibrio cholerae* El Tor biovar, imported into the territory of Russia in the modern period. Mol. genet., microbiol., virological. 2011; 4: 11–8 (in Russian).
9. Smirnova N.I., Kutyrev V.V. The evolution of the cholera pathogen. Mol. genet., microbiol., virological. 2004; 4: 3–13 (in Russian).
10. Shashkova A.V., Goryaev A.A., Smirnova N.I. Structure and functional role of the CRISPR-system bacteria. Plague. 2011; 2 (108): 49–52 (in Russian).
11. Borkakoty B., Biswas D., Devi U. et al. Emergence of classical ctxB genotype 1 and tetracycline resistant strains of *Vibrio cholerae* O1 El Tor in Assam, India. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 2012; 106 (6): 382–6.
12. Burrus V., Quezada-Calvillo R., Marrero J. et al. SXT-related integrating conjugative element in New World *Vibrio cholerae*. Appl. Environ. Microbiol. 2006; 72 (4): 3054–7.
13. Chakraborti S., Mukhopadhyay A.K., Bhadra R.K. et al. Virulence genes in environmental strains of *Vibrio cholerae*. Appl. Environ. Microbiol. 2000; 66 (9) 4022–8.
14. Chakraborty S., Waise T.M.Z., Hassan F. et al. Assessment of the evolutionary origin and possibility of CRISPR-Cas (CASS) mediated RNA interference pathway in *Vibrio cholera* O395. In Silico Biol. 2009; 9 (4): 245–54.
15. Dziejman M., Balon E., Boydet D. et al. Comparative genomic analysis of *Vibrio cholerae*: genes that correlate with cholera endemic and pandemic disease. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002; 99: 1556–61.
16. Faruque S.M., Mekalanos J.J. Phage-bacterial interactions in the evolution of toxigenic *Vibrio cholerae*. Review. 2012; 3 (7): 1–10.

17. Halder K., Das B., Nair B. et al. Molecular evidence favouring step-wise evolution of Mozambique *Vibrio cholerae* O1 El Tor hybrid strain. *Microbiology*. 2010; 156: 99–107.
18. Makarova K.S., Aravind L., Grishin N.V. et al. A DNA repair system specific for thermophilisarchaea and bacteria predicted by genomic context analysis. *Nucl. Acids Res.* 2009; 30: 482–96.
19. Morita M., Ohnishi M., Arakawa E. et al. Development and validation of a mismatch amplification mutation PCR assay to monitor the dissemination of an emerging variant of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor. *Microbiol. and Immunol.* 2008; 52 (6): 314–7.
20. Murphy R.A., Boyd E.F. Three pathogenicity islands of *Vibrio cholerae* can excise from the chromosome and form circular intermediates. *J. Bacteriol.* 2008; 190 (2): 636–47.
21. Mutreja A., Thomson N.R., Connor T.R. et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477: 462–5.
22. Nair G.B., Qadri F., Holmgren J., Svennerholm A.M. et al. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44: 4211–3.
23. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A. et al. New Variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40 (9): 3296–9.
24. O'Shea Y.A., Finnan S., Reen F.J. et al. The *Vibrio* seventh pandemic island-II is a 26,9 kb genomic island present in *Vibrio cholerae* El Tor and O139 serogroup isolates that shows homology to a 43,4 kb genomic island in *V. vulnificus*. *Microbiology*. 2004; 150: 4053–63.

Поступила 11.13

Received 11.13

Сведения об авторах:

Челдышова Надежда Борисовна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», E-mail: rusrap1@microbe.ru; **Гусева Наталья Петровна**, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», e-mail: rusrap1@microbe.ru; **Смирнова Нина Ивановна**, д-р биол. наук, проф., зав. отд. микробиологии ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», e-mail: rusrap1@microbe.ru

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.921.5-036.22«2009–2013»

Яковлев А.А.¹, Котлярова С.И.², Мусатов В.Б.¹, Федуняк И.П.³, Карнаухов Е.В.², Вашукова С.С.⁴, Иванова Е.Н.²

ТРИ ЭПИДЕМИЧЕСКИХ СЕЗОНА ГРИППА 2009–2013 гг.

¹ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7/9; ²СПБ ГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, 191167, Санкт-Петербург, ул. Миргородская, 3; ³ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41; ⁴СПБ ГБУЗ Городской клинико-диагностический центр (вирусологический), 191167, Санкт-Петербург, ул. Миргородская, 3, литер Д.

Настоящая публикация посвящена сравнительному эпидемиологическому и этиологическому анализу гриппа сезонов 2009–2010, 2011 и 2013 гг. В статье приведены количественные данные о госпитализации пациентов в инфекционный стационар в период эпидемических сезонов с анализом календарного времени, длительности и пиков массового поступления. Приведены также данные об этиологической структуре гриппа в каждый эпидемический сезон. Проанализирована летальность от гриппа в целом и гриппа А(Н1)рdm09. Уточнены сходства и различия эпидемических сезонов в указанные годы.

Ключевые слова: пандемический грипп А(Н1)рdm09; сезонный грипп; эпидемический сезон; подъем заболеваемости; пик поступления; летальность; коморбидность.

Yakovlev A.A.¹, Kotlyarova S.I.², Musatov V.B.¹, Fedunyak I.P.³, Karnaukhov E.V.², Vashukova S.S.⁴, Ivanova E.N.²

THREE EPIDEMIC SEASONS OF FLU OF 2009–2013

¹FGBOU VPO St. Petersburg State University, Department of Infectious Diseases and Epidemiology; 199034, St. Petersburg, University Embankment, 7/9; ²SPB GBUZ Clinical Hospital of Infectious Diseases named after S.P. Botkin; 191167, St. Petersburg, Mirgorodskaya St., 3; ³GBOU VPO North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; 191015, St. Petersburg, Kirochnaya St., 41; ⁴SPB GBUZ City Clinical Diagnostic Center (Virologic); 191167, St. Petersburg, Mirgorodskaya St., 3, Letter D.

The present publication is devoted to the comparative epidemiological and ethyologic analysis of flu in seasons of 2009–2010, 2011 and 2013. In the article there are presented quantitative data on hospitalization of patients to an infectious hospital in the period of epidemic seasons with the analysis of calendar time, duration and peaks of mass admission. Data on etiological structure of flu are provided for each epidemic season also. The lethality from flu as a whole and from flu А(Н1)рdm09 is analyzed. Similarities and distinctions of epidemic seasons in the specified years are clarified.

Key words: pandemic flu А(Н1)рdm09; seasonal flu; epidemic season; morbidity rate; morbidity peak; lethality; comorbidity.

Для корреспонденции: Яковлев Алексей Аевенирович, гл. врач СПб ГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, зав. каф. инфекционных болезней, эпидемиологии и венерологии СПбГУ, д-р мед. наук, проф.; e-mail: hosp30@mail.rcsm.ru

Возникший пандемический грипп сезона 2009–2010 гг. вызвал новый интерес мировой науки к этому заболеванию. Непрерывный эпидемиологический и вирусологический мониторинг в сезон

пандемического гриппа в 2009–2010 гг. и далее в последующие годы стимулировал научные исследования и выявил новые эпидемиологические характеристики гриппа [1]. Пандемия 2009–2010 гг. носила моноэтиологичный характер, почти вытеснив обычные сезонные вирусы, в том числе вирус гриппа В [2]. За прошедшие 3 года подробно описана клиническая, эпидемиологическая и вирусологическая картина завершившейся пандемии [2]. Оставшийся циркулировать среди человеческой популяции, а также среди животных и птиц пандемический штамм включился в когорту сезонных вирусов гриппа. Уже в 2011–2012 гг. при анализе эпидемиологической ситуации по гриппу выявлено, что заболеваемость в Западном и Восточном полушариях была обусловлена циркуляцией вирусов гриппа не только А(Н1) pdm09, но и вирусами А (Н3N2) и В [3]. В 2011 г. и далее в РФ, по данным НИИ гриппа и НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского, продолжалась циркуляция пандемического вируса А(Н1) pdm09 – 29,6%, а также зарегистрированы вирусы гриппа А (Н3N2) – 0,5%, гриппа В – 6,5% и несубтипированный грипп – 0,2% [4, 6]. Постоянно меняющаяся картина активности вирусов гриппа требует дальнейшего детального изучения характера ежегодных эпидемических подъемов (удельный вес известных и вновь появляющихся типов вируса гриппа, клиническая картина заболеваний в период эпидемического подъема, темпы прироста и продолжительность эпидемии, формирование постинфекционного иммунитета и др.) для планирования оказания объемов медицинской помощи.

Цель – изучить динамику госпитализации больных в Клиническую инфекционную больницу им. С.П. Боткина Санкт-Петербурга при подъеме заболеваемости гриппом в сезон 2009–2010 г., 2011 и 2013 гг. Определить доленое участие циркулирующих типов вирусов из семейства гриппа в последующие годы после глобальной пандемии.

Материалы и методы

Проведен сравнительный анализ потоков поступления больных в Клиническую инфекционную больницу им. С.П. Боткина Санкт-Петербурга в периоды эпидемических подъемов в 2009–2013 гг. Сведения Роспотребнадзора, представляющие общую заболеваемость гриппом, не отражают кластерную дифференцировку возбудителей из-за недостаточного охвата лабораторным обследованием всех заболевших в городе. Стационарное обследование в 2009 г. позволило начать массовый скрининг госпитализированных пациентов с гриппом А (Н1) pdm09 и в последующие годы продолжить эту работу с расширением этиологического спектра вирусов гриппа.

Обнаружение вирусов гриппа осуществляли в мазках из носоглотки методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (Rotor-Gene 6000) с использованием реагентов Amplisense Influenza virus A/H1-swine-

F1 и Amplisense Influenza virus A/B-F1 производства ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора. Серологические исследования выполняли с помощью реакции связывания комплемента и реакции торможения гемагглютинации. Проведен сравнительный анализ этиологической структуры выделенных от больных вирусов гриппа в 2009–2013 гг. Проведена статистическая обработка данных – использовали статистический пакет SPSS for Windows. Использовали параметрические и непараметрические методы сравнения, исходя из характера распределения числовых данных, а также критерий χ^2 для анализа качественных признаков.

Результаты и обсуждение

В Санкт-Петербурге в 2009 г. период эпидемического подъема начался с октября. Диагноз устанавливали на основании клинико-эпидемиологических данных, так как было невозможно провести тотальный скрининг всех поступающих пациентов из-за лимита объема исследований. Однако, по данным НИИ гриппа РАМН [5], осенью 2009 г. эпидемический подъем заболеваемости на 90–98% был связан с пандемическим гриппом А(Н1) pdm09. Это позволило экстраполировать данные на весь поток поступивших с диагнозом гриппа (2685 человек), и хотя детекция вируса была выполнена только у 735 (34,2%) человек, можно было с уверенностью говорить о том, что свыше 90% поступающих болели именно гриппом А(Н1)pdm09. Общая продолжительность высокой заболеваемости с 04.10.09 по 03.01.10 составила 13 нед (41–53-я неделя пандемии). Средний возраст больных составил 24, 19, 31 (Me; 25%; 75%) год.

В 2011 г. сезон гриппа начался с начала января и закончился в конце марта. Длительность его также составила 13 нед (рис. 1), после чего заболеваемость быстро снизилась. Средний возраст больных был 31,6, 23,39 (Me; 25%; 75%) лет.

В 2012 г., согласно Постановлению Главного государственного врача по Санкт-Петербургу от 05.09.13 № 10, эпидемического подъема заболеваемости гриппом не зарегистрировано. Повышение числа случаев гриппа наблюдалось в течение 8 нед

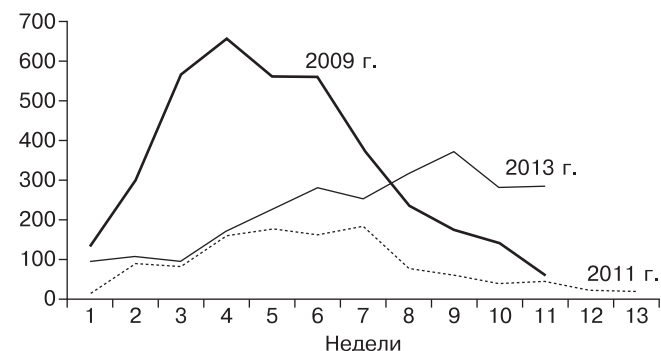


Рис. 1. Госпитализация взрослых в 2009–2010, в 2011 и в 2013 гг.

Характеристика эпидемических сезонов гриппа в 2009–2010, 2011, 2013 гг.

Эпидемический сезон, средний возраст	Календарное время	Длительность эпидемического сезона (фактическая), нед*	Пик госпитализации	Летальность от гриппа в целом, %
2009–2010 гг. Средний возраст	43-я неделя 2009 г. – 2-я неделя 2010 г. 24,0 года	13	С 44-й по 50-ю неделю (6 нед)	2,0
2011 г. Средний возраст	1–13-я неделя 31,6 года	13	Со 2-й по 8-ю неделю (6 нед)	1,6
2013 г. Средний возраст	1–13-я неделя 33,0 года	13	С 4-й по 10-ю неделю (6 нед)	0,9

Примечание. * – указана длительность повышенной заболеваемости гриппом, охватывающей больший период, чем сроки официально объявленной Роспотребнадзором эпидемии в Санкт-Петербурге.

Характеристика гриппа в эпидемические сезоны 2009–2013 гг.

Заболевание	2009–2010 гг.	Летальность в 2009–2010 гг., %	2011 г.	Летальность в 2011 г., %	2013 г.	Летальность в 2013 г., %
ОРВИ + грипп	5611		5685		3563	
Грипп	2685	0,7	1535	0,9	1213	0,6
Доля гриппа, % от ОРВИ	47,8		27,0		34,0	
Грипп, подтвержденный лабораторно	2221 (82,7%)	0,9	1497 (97,5%)	0,9	1197 (98,6%)	0,5
Грипп А(Н1)рdm09	792 (9,4%)*	16–2,0	884 (57,5%)	14–1,6	455 (37,5%)	4–0,9
Грипп А (Н3)			511 (4,1%)		216 (18,0%)	3 (0,24%)
Грипп В			78 (5,0%)		221 (18,4%)	
Микстгрипп			24 (1,6%)		19 (1,5%)	

Примечание. * – в таблице указан процент от проведенных вирусологических исследований только у части поступивших больных – у 792 человек, в то время как больные гриппом А (Н1)рdm09 в действительности составили свыше 90% поступающих пациентов.

(с марта по апрель 2012 г.), но оно не достигало порогового уровня, когда объявляется эпидемическая ситуация. Таким образом, мы наблюдали три эпидемических подъема гриппа: в 2009–2010, 2011 и в 2013 гг.

В 2013 г. в европейских странах и в РФ подъем заболеваемости гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ) начался с января и закончился в марте. Продолжительность эпидсезона в 2013 г. в Петербурге составила 13 нед (с 1-й по 13-ю). В России и Санкт-Петербурге, по данным Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, пик максимального превышения порогового уровня заболевания (до 23,7%) наблюдался к 9-й неделе года [6], а далее, с 10-й недели началось постепенное снижение заболеваемости, и к 14-й неделе заболеваемость уже не превышала порогового уровня практически во всех регионах страны.

Из данных табл. 1 видно, что подъем заболеваемости гриппом в среднем составлял 13 нед с пиком заболеваемости продолжительностью по 6 нед в каждый эпидемический сезон, однако календарное время пандемического гриппа пришлось на 43-ю неделю 2009 г. – 2-ю неделю 2010 г., а сезонный грипп 2011 и 2013 гг. начинался с января и завершался в начале апреля. Очень показательным является возрастной ценз заболевших: пандемическим гриппом болели в основном молодые люди (24 года), а сезонным гриппом 2011 и 2013 гг. – люди более старшего возраста (31,6 и 33,0 года соответственно).

В потоках поступающих больных с диагнозом гриппа/ОРВИ в период пандемии 2009–2013 гг. (табл. 2) число больных гриппом достигало 47,8%, в то время как в период сезонных эпидемических подъемов видно, что доля больных гриппом составляет в среднем третью часть (27–34%).

Возможности идентификации вируса постепенно расширялись, и к 2013 г. в Клинической инфекционной больнице им. С.П. Боткина впервые было проведено сплошное (тотальное) обследование всех поступивших с подозрением на грипп. Верификация гриппа в 2013 г. достигла 98,6%. Грипп А (Н1)рdm09, как мы полагаем, в 2009 г. встречался в абсолютном большинстве, постепенно снижался: к 2011 г. он составил чуть больше половины (57,5%) от общего количества больных гриппом, а в 2013 г. – уже 37,5%.

В сезон эпидемического подъема заболеваемости гриппом и респираторными инфекциями с 1 января по 31 марта 2013 г. было госпитализировано 2960 пациентов с диагнозом ОРВИ/грипп. Эпидемический подъем гриппа был зарегистрирован с 1-й по 14-ю неделю с пиком заболеваемости на 6–11-й неделе года (см. рис. 1). Из рис. 1 отчетливо видно, что на пике заболеваемости число госпитализированных пациентов в 2013 г. по сравнению с 2009 г. уменьшилось практически вдвое. Динамика поступления пациентов в инфекционный стационар «понеделно» отражена на рис. 2. По данным рис. 2 видно, насколько медленнее развивался эпидемический процесс в 2013 г. по сравнению с 2009 г. В 2009 г.

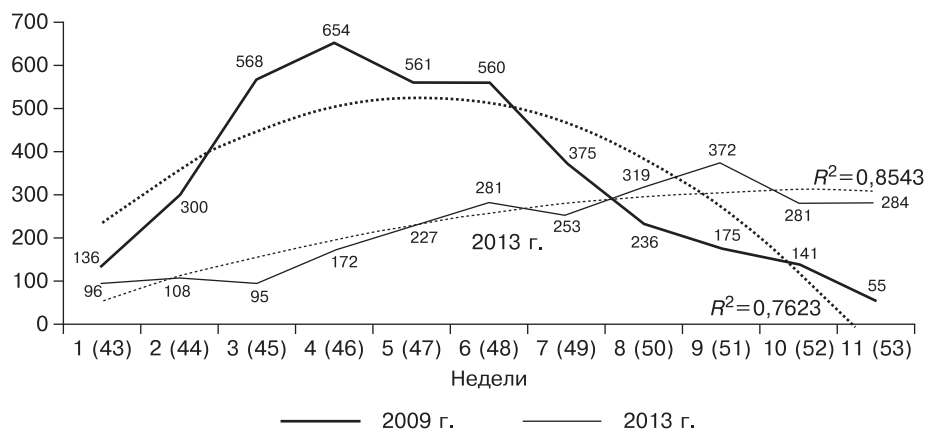


Рис. 2 Динамика госпитализации пациентов в 2009 и в 2013 гг. (в скобках указаны недели 2009 г.).

поступление носило эксплозивный характер: уже к концу 1-й недели эпидемического подъема поступление достигло 500–600 человек за неделю, преодолевая рубеж 100–150 человек в сутки. В то же время в 2013 г. поступление носило постепенно нарастающий характер с максимальным подъемом на 9–10-й неделе и поступлением от 40 до 50 человек в сутки.

Так, на 7-й неделе поступили 253 человека, на 8-й – 319, на 9-й – 372 больных, на 10-й – 281 и на 11-й 284 – пациента.

Динамика поступления, отражающая динамику заболеваемости с различным характером в 2009, 2011 и 2013 гг., характеризовала различия течения эпидемических сезонов гриппа. Так, в 2009 г. наблюдался эксплозивный подъем поступающих больных, а в 2011 и 2013 гг. – медленный постепенный подъем. Временной интервал подъема заболеваемости гриппом в 2011 и 2013 гг. сдвинулся на 1–13-ю неделю с пиком на 6–10-й неделе, в то время как в 2009 г. эпидемический сезон приходился на 43–53-ю неделю с пиком заболеваемости на 45–50-й неделе. Сходными признаками в сравниваемых эпидемиях являлись длительность сезонов (по 13 нед) и пик максимального подъема госпитализации (по 6 нед), что представляет интерес с точки зрения цикла развития возбудителя в человеческой популяции и, с другой стороны, свидетельствует о возникновении иммунной прослойки населения, обусловившей снижение численности больных к 2013 г.

На рис. 2 по данным динамики госпитализации пациентов в 2009 и 2013 гг. убедительно показан различный характер двух эпидемических процессов (крутая синусоида 2009 г. и пологая синусоида 2013 г.). Достоверность полученных данных подтверждается коэффициентом регрессии $R^2 = 0,76$ в 2009 г. и $R^2 = 0,85$ в 2013 г., показывающим интенсивность влияния факторов на результивный показатель.

Этиологическая структура гриппа. В 2009 г. абсолютное большинство больных имели пандемический штамм вируса гриппа А (H1) pdm09. Приводим данные табл. 2: диагностирован 2221 больной

гриппом, из которых у 82,7% удалось провести верификацию вируса гриппа А (H1) pdm09. Но, по всей вероятности, этот показатель был на уровне 90% и выше.

В эпидемический сезон 2011 г. поступили 1535 больных гриппом, который был верифицирован в 97,5% случаях (см. табл. 2; рис. 3). В этом эпидемическом сезоне 2011 г., следующим сразу за пандемическим гриппом, появилась разнородность типов вируса (см. рис. 3). Так, грипп А(H1)pdm09 составил 57,5% от общего числа больных гриппом (884 человека), сезонные штаммы гриппа А

(H3N2) составили 40,9% (613 человек) и грипп В – 5% (78 человек). Кроме того, были выявлены микстформы гриппа (H1)pdm09+ А (H3N2) – 3%; А (H3N2) + В – 1,6%. В последнее десятилетие возможности лабораторной диагностики позволяют регистрировать коморбидные случаи инфекционных форм, что вызывает особый интерес. В.И. Покровский, В.В. Малеев [7] подчеркивают, что эволюция инфекционного процесса последних десятилетий характеризуется наряду со многими факторами более частым развитием микстформ: суперинфицированием, коинфицированием. Совместное и взаимное влияние двух патогенов на тканевой субстрат, метаболизм биологических реакций, течение инфекционного процесса еще подлежит детальному изучению. Но уже в настоящее время мы можем анализировать клинические проявления коинфекций, вызванных одним и тем же семейством возбудителей или совершенно разными, обуславливая феномен коморбидности. Коморбидность в ряде случаев может иметь синергичный эффект или, наоборот, приводить к антагонистическому взаимодействию инфекционных агентов, что в конечном итоге может менять картину известного инфекционного процесса. В настоящее время нет данных о распространенности микстформ гриппа с разными типами семейства ортомиксовирусов, однако в настоящее время с применением современных высокотехнологичных способов диагностики мы наблюдаем, как новый реассортант А(H1) pdm09 постепенно смешивается с сезонными штаммами вируса гриппа.

Из 2960 поступивших в период эпидемического сезона 2013 г. 31,1% (1213 человек) больных был установлен диагноз гриппа (см. табл. 2). Этиологическая расшифровка была высокой и составляла 98%. В кластере ортомиксовирусов в 2013 г. были выявлены различные вирусы гриппа А(H1)pdm09 – 455 человек, А(H3) – 216, В – 221 человек. Кроме того, у 11,5% больных были диагностированы случаи коинфицированного гриппа: А(H1) pdm09 + А(H3N2) – 9 больных; (H1)pdm09 + А (H3N2) + В был зарегистрирован у 3 больных, и грипп А (H3N2) + В встречался у 7 больных.

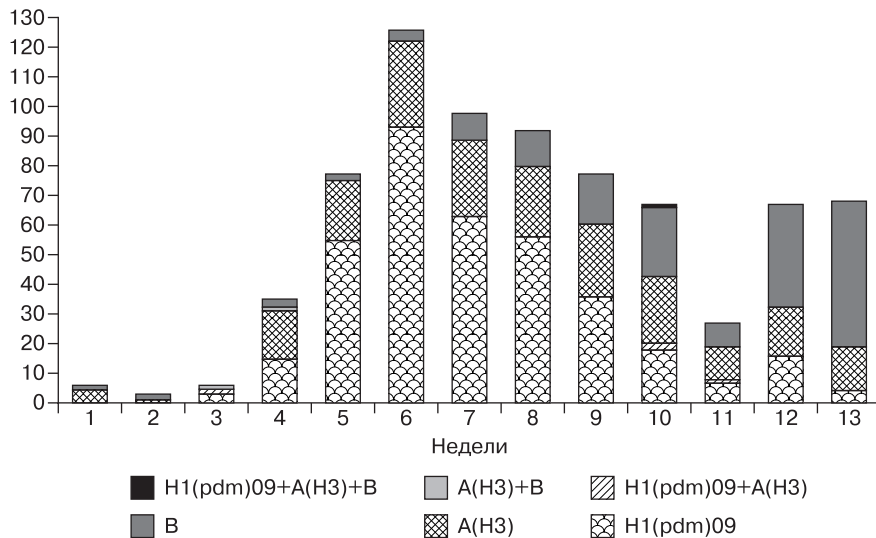


Рис. 3. Динамика структуры верифицированного гриппа за период с 01.01. по 31.03.13.

По итогам еженедельной госпитализации чрезвычайный интерес представляют данные о динамике структуры верифицированного гриппа в 2013 г. (рис. 3).

С 1-й недели эпидемического подъема регистрировался грипп А(Н3), который начал постепенно повышаться и, достигнув к 4–5-й неделе максимума числа госпитализированных (16–20 человек в сутки), оставался на этом уровне почти до конца сезона (до 13-й недели). Совершенно другая картина по гриппу А(Н1)рdm09. Пациенты начали поступать с 3-й недели, и их число достигло максимума на 5–8-й неделе (65–93–53 человека). Далее наблюдался спад числа пациентов с пандемическим штаммом, которое достигло минимума к 13-й неделе (4 пациента). В то же время грипп В набирал силу медленно: на пике сезона (5–6-я неделя) число поступивших больных с гриппом В было небольшим (9–10 человек), однако постепенно на фоне снижения числа больных с пандемическим штаммом происходит увеличение больных гриппом В, достигая к концу эпидемического сезона (13-я неделя) числа до 50 человек в неделю. При этом почти на всем протяжении сезона большим постоянством отличался грипп

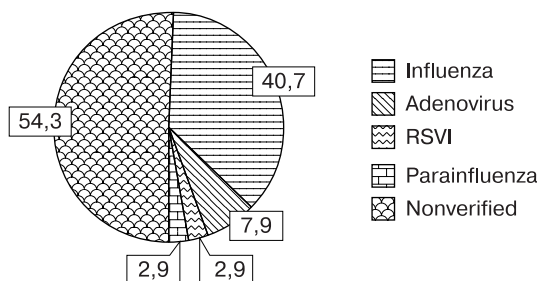


Рис.4. Циркуляция других вирусов – возбудителей ОРВИ (выборочный анализ, n = 140).

А(Н3N2). Набирая силу, постепенно с 1-й недели эпидемического сезона число заболевших с 5–10 человек в неделю к концу 4-й недели достигало уже 25–30 человек в неделю. И эту цифру грипп А(Н3) держал практически два последующих месяца, с трудом снижая ее к концу эпидемического сезона.

Полученные данные позволяют заключить, что доминирующим вирусом в разгар эпидемического сезона 2013 г. оставался вирус А(Н1)рdm09, который, однако, значительно снижался к концу сезона, уступая место гриппу В, при котором число больных нарастало к концу эпидемического сезона. Здесь мы наблюдаем возвращение классического чередования активности вирусов гриппа (как в прошлые сезоны до пандемии), при котором на спаде повышенной заболеваемости одним штаммом гриппа (А(Н1)рdm09) постепенно активизируется другой штамм (В), удлиняя тем самым эпидемический период. Кроме того, в этиологической структуре острых респираторных инфекций сезона 2013 г. присутствовали другие агенты (рис. 4). При выборочном анализе у 140 пациентов с отрицательными результатами на грипп мы обнаружили других возбудителей острых респираторных заболеваний. Так, аденовирусная инфекция встречалась у 7,9% пациентов, респираторно-синцитиальная инфекция – у 2,9%, парагрипп – у 2,9% больных, а также неverified этиология респираторных заболеваний оказалась у 54,3% больных.

Таким образом, в более отдаленные от пандемии сроки определяется все большее разнообразие типов вируса гриппа и штаммов вируса А. Кроме того, появляются коинфицированные формы гриппа, что представляет научный и практический интерес и подлежит дальнейшему анализу.

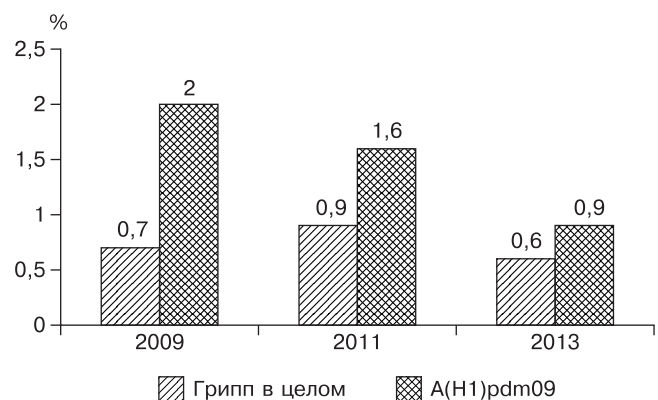


Рис. 5. Летальность от гриппа в целом и от гриппа А(Н1)рdm09 в 2009, 2011 и 2013 гг.

Летальность от гриппа. В Клинической больнице им. С.П.Боткина в период с 41-й по 53-ю неделю в 2009 г. зарегистрировано 16 летальных исходов от гриппа А(Н1)рdm09. Показатель летальности составил 0,7% от общего числа пациентов, госпитализированных с гриппоподобным заболеванием и 2,0% от числа больных с лабораторно подтвержденным диагнозом гриппа А(Н1)рdm09 (рис. 5).

В период эпидемического подъема заболеваемости в 2011 г. летальность от верифицированного гриппа в целом составила 0,9%, но летальность от пандемического гриппа А(Н1)рdm09 уменьшилась по сравнению с 2009 г. и составила 1,6%.

В 2013 г. летальность от верифицированного гриппа на 31 июля 2013 г. была самой низкой за наблюдаемый период и составила 0,6%. При этом летальность от гриппа А(Н1)рdm09 была в 2,2 раза меньше, чем в 2009 г., и в 1,7 раза меньше, чем в 2011 г., и составила 0,9%.

Таким образом, летальность от гриппа А(Н1)рdm09 постепенно уменьшается, что свидетельствует о формировании эпидемической прослойки населения города за прошедшие почти четыре года и более высокой устойчивости к пандемическому штамму гриппа. Следует отметить, что умершие пациенты не были вакцинированы от гриппа и все имели предикторы неблагоприятного исхода: беременность, ожирение, ВИЧ-инфекцию в стадии СПИДа, анемию + тромбоцитопению, волосато-клеточный лейкоз, миелому, сахарный диабет в тяжелой форме. Практически у всех погибших больных развилась пневмония, которая имела фатальное течение. Но в ряде случаев пневмония имела благоприятный исход.

Поражение легких в виде вирусной/вирусно-бактериальной пневмонии явилось наиболее частым осложнением при гриппе. В 2009 г. пневмония развилась у 10,7% больных гриппом А(Н1)рdm09, из них у 16 человек специфическая вирусная пневмония привела к летальному исходу. В 2011 г. пневмония отмечалась значительно реже – у 4,1% больных, тем не менее 14 пациентов с гриппом А(Н1)рdm09, осложненным вирусной пневмонией, умерли. В 2013 г. пневмония развилась у 13% больных, при этом чаще она развивалась у пациентов с гриппом А(Н3). Имеется статистически достоверная корреляция уровня пневмоний как с уровнем гриппа А(Н1)рdm09 [р Спирмана 0,657; $p = 0,015$], так и с уровнем сезонного гриппа А(Н3) – [р Спирмана 0,680; $p = 0,010$]. С гриппом В корреляции не выявлено. Анализ с применением квадратичной регрессии демонстрирует, что уровень пневмонии как осложнения гриппа в большей степени может быть связан с сезонным гриппом А(Н3), нежели с А(Н1)рdm09. Тем не менее у 4 пациентов с гриппом А(Н1)рdm09 двусторонняя субтотальная пневмония имела тяжелое течение со смертельным исходом. Но все же доля тяжелого специфического субтотального/тоталь-

ного поражения легких при гриппе А(Н1)рdm09 значительно уменьшилась.

Полученные данные свидетельствуют о большей частоте развития пневмонии в 2013 г. при участии штаммов А(Н1)рdm09 и А(Н3), в то время как в 2009 г. пневмония была обусловлена только пандемическим вирусом А(Н1)рdm09.

Таким образом, проведенные исследования позволили определить сходства и различия между пандемическим подъемом заболеваемости гриппом в 2009–2010 гг. и сезонным гриппом в последующие две эпидемии 2011 и 2013 гг.

Выводы

1. Сходными чертами эпидемических сезонов гриппа 2009, 2011 и 2013 гг. являлись:

- Средняя продолжительность каждого эпидемического сезона составила 13 нед.
- Длительность периода разгара во всех случаях составила 6 нед.

2. Различия между эпидемиями пандемического и сезонного гриппа 2009, 2011 и 2013 гг. были следующими:

- Эпидемический подъем в 2009 г. носил эксплозивный характер, набирая пиковые темпы со 2-й недели эпидемии, в то время как число госпитализаций в 2011 и 2013 гг. нарастало постепенно с разгаром на 4–10-й неделе от начала сезона.

- Временной интервал подъема поступлений больных гриппом 2009 г. приходился на 43–54-ю неделю с разгаром заболеваемости со 2-й недели от начала эпидемии (44-я неделя), в то время как в 2011 и 2013 гг. эпидемические сезоны зарегистрированы с 1-й по 13-ю неделю с пиком на 4-й неделе от начала сезона.

- Поток госпитализированных больных гриппом в 2011 г. уменьшился по сравнению с 2009 г. в 1,7 раза, а в 2013 г. – в 2,2 раза.

- Средний возраст больных в период пандемии (24 года) был меньше, чем в 2011 г. (31,6 года), и в 1,3 раза меньше, чем 2013 г. (33 года).

- Пандемический сезон 2009 г. на 90% носил моноэтиологический характер, обусловленный одним циркулирующим штаммом вируса А(Н1)рdm09, доля которого в последующие годы постепенно уменьшалась, регистрируясь одновременно с другими штаммами и типами вируса гриппа. Так, в 2011 г. вирус А (Н1N1)рdm09 встречался в 57,5% случаев, в 2013 г. – в 37,5%, параллельно регистрировался вирус типа А (Н3) – 34,1% (2011) и 20,0% (2013) и вирус типа В – в 5% (2011) и 18,4 % случаев (2013). Небольшую долю – 1,6% в 2011 г. и 1,5% в 2013 г. составили больные микстформами гриппа.

- Различием эпидемических сезонов 2009, 2011 и 2013 гг. являлось также постепенное снижение летальности, что свидетельствует об иммунизации населения высокопатогенным вирусом гриппа А (Н1N1)рdm09 и уменьшении заболеваемости.

- В постпандемическом периоде развитие пнев-

монии наблюдается не только при гриппе А (H1N1) pdm09, но и при гриппе А (H3), при этом у больных гриппом А (H1N1) pdm09 постепенно уменьшается доля тяжелого специфического субтотального/тотального поражения легких.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белов А.Б., Огарков П.И. Дискуссионные вопросы эпидемиологии и профилактики гриппа в свете результатов ретроспективного анализа эпидемической ситуации 2009–2010 гг. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2011; 3: 38–42.
2. Свистунова Н.В., Баранова И.П., Зыкова О.А., Федорова О.В. Сравнительный анализ клинических особенностей гриппа А (H1N1) и гриппа В у госпитализированных больных. Инфекционные болезни. 2013; 11 (1): 27–32.
3. <http://www.euro.who.int/flufocus>. Issue № 6, December, 2012.
4. Эпидемическая ситуация по гриппу в мире. Информационное сообщение № 96 от 14 января 2013 г. Информационные материалы Сотрудничающих центров ВОЗ (ФБУ «НИИ гриппа»/ФБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского». amizop/ua>ru/maininfo_70-353.html.
5. Осидак Л.В., Еропкин М.Ю., Ерофеева М.К., Дондурей Е.А., Образцова Е.В., Зарубаев В.В., Дринеvский В.П. Тип гриппа А (H1N1) 2009 в России. Terra Medica Nova. Инфекционные болезни. 2009; 4–5: 6–9.
6. Об итогах распространения гриппа и ОРВИ в мире и Российской Федерации в эпидсезон 2012–2013 гг. и прогнозе на эпидсезон 2013–2014 гг. Письмо от 24.06.2013 № 01/7080-13-32 Главного государственного санитарного врача РФ Г.Г. Онищенко. М.; 2013.
7. Покровский В.И., Малеев В.И. Актуальные вопросы терапии и профилактики в условиях эволюции инфекционных заболеваний. Инфекционные болезни. 2003; 1 (1): 6–8.

REFERENCES

1. Belov A.B., Ogarkov P.I. Diskussionnye voprosy jepidemiologii i profilaktiki grippa v svete rezul'tatov retrospektivnogo analiza jepidemicheskoj situacii 2009–2010 gg. Jepidemiologija i infekcionnye bolezni. 2011; 3: 38–42 (in Russian).
2. Svistunova N.V., Baranova I.P., Zyкова O.A., Fedorova O.V.

Sravnitel'nyj analiz klinicheskikh osobennostej grippa A (N1N1) i grippa V u gositalizirovannyh bol'nyh. Infekcionnye bolezni. 2013; 11 (1): 27–32 (in Russian).

3. <http://www.euro.who.int/flufocus>. Issue № 6, December, 2012.
4. Jepidemicheskaja situacija po grippu v mire. Informacionnoe soobshhenie № 96 ot 14 janvarja 2013 g. Informacionnye materialy Sotrudnichajushhh centrov VOZ (FBU «NII grippa»/FBU «NII virusologii im. D.I. Ivanovskogo». amizop/ua>ru/maininfo_70-353.html (in Russian).
5. Osidak L.V., Eroпкиn M.Ju., Erofeeva M.K., Dondurej E.A., Obrazcova E.V., Zarubaev V.V., Drinevskij V.P. Tip grippa A (H1N1) 2009 v Rossii. Terra Medica Nova. Infekcionnye bolezni. 2009; 4–5: 6–9 (in Russian).
6. Ob itogah rasprostraneniya grippa i ORVI v mire i Rossijskoj Federacii v jepidsezon 2012–2013gg. i prognoze na jepidsezon 2013–2014 gg. Pis'mo ot 24.06.2013 №01/7080-13-32 Glavnogo gosudarstvennogo sanitarnogo vracha RF G.G.Onishhenko. Moscow; 2013 (in Russian).
7. Pokrovskij V.I., Maleev V.I. Aktual'nye voprosy terapii i profilaktiki v uslovijah jevoljucii infekcionnyh zabolevanij. Infekcionnye bolezni. 2003; 1 (1): 6–8 (in Russian).

Поступила 26.11.13

Received 26.11.13

Сведения об авторах:

Котлярова Светлана Ильинична, врач-инфекционист СПб ГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, канд. мед. наук, доцент, e-mail: sik1108@mail.ru; **Мусатов Владимир Борисович**, зам. гл. врача СПб ГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, канд. мед. наук, доцент каф. инфекционных болезней ГМУ, e-mail: doctormusatov30@gmail.com; **Федуняк Иван Павлович**, зам. гл. врача СПб ГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, канд. мед. наук, доцент каф. инфекционных болезней, e-mail: Gibf30@mail.ru; **Карнаухов Евгений Викторович**, врач-инфекционист СПб ГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, канд. мед. наук, e-mail: Zhenya-vk@yandex.ru; **Ващукова Светлана Степановна**, гл. врач городского клинико-диагностического центра (вирусологический), канд. мед. наук; **Иванова Елена Николаевна**, врач-инфекционист СПб ГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина

ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.36-002.2-022-06:616.36-004+616.36-006.04

Николаева Л.И.¹, Лейбман Е.А.^{1,2}, Сапронов Г.В.³, Юдин А.Н.¹**ЦИРРОЗ ПЕЧЕНИ И ГЕПАТОКЛЕТОЧНАЯ КАРЦИНОМА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С: ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

¹ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 16; ²ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1; ³ГБОУ ДПО «Российская академия последиplomного образования», 123995, Москва, ул. Баррикадная, 2

Цель обзора – проанализировать современные эпидемиологические и молекулярно-генетические данные по развитию цирроза печени и первичной гепатоклеточной карциномы у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С. Рассмотрены особенности распространения этой патологии у взрослых и детей.

Ключевые слова: вирусный гепатит С; цирроз печени; гепатоклеточная карцинома.

Nikolaeva L.I.¹, Leybman E.A.^{1,2}, Sapronov G.V.³, Yudin A.N.¹

LIVER CIRRHOSIS AND HEPATOCELLULAR CARCINOMA IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS C: SOME EPIDEMIOLOGIC AND MOLECULAR-GENETIC ASPECTS

¹D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Gamaleya str., 16, Moscow, Russian Federation, 123098;²N.I. Pirogov Russian National Medical University, 1, Ostrovityanova str., Moscow, Russian Federation, 117997;³Russian Medical Academy of Post-Graduate Education, 2, Barrikadnaya str., Moscow, Russian Federation, 123995

The aim of this review is to analyze the modern epidemiological and molecular-genetic data concerning development of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. There were considered peculiarities of the occurrence of this pathology in adult patients and children with hepatitis C.

Key words: viral hepatitis C; liver cirrhosis; hepatocellular carcinoma.

В нашей стране сохраняется неблагоприятная эпидемиологическая ситуация с хроническим вирусным гепатитом С [1]. Как известно, вирус гепатита С (HCV) передается парентеральным способом: через кровь и препараты, получаемые из нее, а также половым и вертикальным путями. Существенный вклад в распространение HCV-инфекции вносят потребители инъекционных наркотиков, есть вероятность заражения при выполнении татуировки или пирсинга, а также при традиционной терапии с помощью иглоукалывания [1, 2]. Источниками инфекции могут быть больные в острой фазе инфекции, которая очень часто протекает бессимптомно, и пациенты с хроническим гепатитом С (ХГС), не знающие о своем статусе [3]. В развитых странах основная группа инфицированных лиц представлена людьми, рожденными после Второй мировой войны с 1945 по 1965 г., когда отмечался всплеск рождаемости, переливание крови выполнялось без определения маркеров гепатита С у доноров и началось распространение внутривенного потребления наркотических препаратов [4]. В нашей стране за

период с 1999 по 2008 г. показатели заболеваемости ХГС выросли почти в 4 раза, и, что самое неприятно, в последнее время высокие показатели отмечаются в возрастных группах от 20 до 29 лет и от 30 до 39 лет [5].

Часто в первые 10–15 лет после заражения ХГС протекает без существенных клинических проявлений. Через 20 лет после инфицирования вирусом у 20–40% пациентов выявляется цирроз печени (ЦП) [6, 7]. Установлено, что риск развития цирроза выше у тех, кто заразился HCV в старшем возрасте, кто злоупотребляет алкоголем, а также у лиц с HIV/HCV-коинфекцией [4]. ЦП – тяжелое системное заболевание, основными осложнениями которого являются портальная гипертензия, варикозное расширение вен пищевода, печеночная энцефалопатия и развитие гепатоклеточной карциномы (НСС). Частота последней у больных ХГС варьирует от 2 до 30% [8]. Редко в 10–20% случаев НСС формируется без ЦП, что позволяет предположить непосредственное вовлечение HCV в канцерогенез [9, 10]. НСС может проявляться клиническими симптомами: потерей массы тела, желтухой и лихорадкой. Ежегодно в мире около 1 млн людей умирают от цирроза и гепатокарциномы печени, развившимися на фоне хронического гепатит В (ХГВ) или С [11]. По прогно-

Для корреспонденции: Николаева Людмила Ивановна, д-р биол. наук, рук.лаб. генно-инженерных препаратов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского», e-mail: L.i.nikolaeva@mail.ru

зу эпидемиологов США, Франции и Египта, в этих странах с 2020 по 2029 г. ожидается пик летальных исходов вследствие ЦП и НСС, ассоциированных с ХГС [12–14]. Вероятно, в нашей стране будет наблюдаться аналогичная ситуация.

Надо отметить, что развитие цирроза и гепатокарциномы у пациентов с ХГС зависит от ряда индивидуальных особенностей организма больного и эти причины интенсивно изучаются. Цель данного обзора – анализ современных данных, включающих эпидемиологические и молекулярно-генетических аспекты, среди которых представлены факторы вируса и пациента, влияющие на развитие ЦП и НСС у больных с хроническим вирусным гепатитом С.

Некоторые эпидемиологические аспекты, ассоциированные с развитием цирроза и гепатоклеточной карциномы у пациентов с ХГС

Почти 80% всех случаев НСС (независимо от этиологии) приходится на Юго-Восточную Азию и Африку, относительно большой вклад вносят страны юга Европы [15]. По частоте распространения этой патологии Россия близка к США. Среди пациентов с НСС маркеры HCV-инфекции определяются у 80–90% больных в Японии, у 44–66% в Италии и Испании и у 20–40% больных в США [16]. Ряд исследователей связывают это с тем, что на 20-е годы прошлого века приходился период наиболее интенсивного распространения HCV-инфекции в Японии, на 40-е года – в Южной Европе и на 60–70-е годы – в США [17].

Редко НСС может развиваться у пациентов с минимальным фиброзом или без него [9, 10]. Однако пациенты с выраженным фиброзом или циррозом представляют основную группу риска [18]. При ЦП риск развития НСС ежегодно увеличивается на 1–4% и даже 7% в отдельных этнических группах. Наличие РНК вируса в крови и отказ от противовирусной терапии дают неблагоприятный прогноз для пациента с ЦП, в то время как лечение и достижение УВО, снижают риск развития НСС на 57–75% [15]. Нет однозначного мнения о роли генотипа вируса, количестве его генетических вариантов и вирусной нагрузки в развитии гепатокарциномы у больных ХГС [19]. Хотя при сравнительном анализе 21 публикации удалось обнаружить в 2 раза более высокий риск развития НСС у пациентов, инфицированных вирусом субтипа 1b [20]. Наличие сопутствующих хронических вирусных инфекций, таких как HIV и HBV, и некоторых патологических состояний неинфекционной природы (дефицит α 1-антитрипсина, болезнь Вильсона, стеатоз печени) увеличивает риск развития гепатокарциномы у пациентов с ХГС [15, 21].

У мужчин, даже если они не злоупотребляют алкоголем, НСС развивается чаще, чем у женщин, что может быть связано с половыми гормонами. При хронической HBV-инфекции была установлена связь между высоким уровнем гормона тестостерона в крови и развитием гепатокарциномы [22]. Для

хронической HCV-инфекции такую зависимость пока не обнаружили. Хотя было два исследования с участием небольших групп больных с противоположными результатами [23, 24]. Однако при обследовании больных ХГС мужчин в США была выявлена зависимость между высоким уровнем тестостерона и более выраженным фиброзом и воспалительной активностью в ткани печени [25].

Наличие географических зон с более высокой частотой развития НСС позволяет предположить и роль этногеографических факторов: особенностей быта, питания, загрязнения территории, интенсивности инсоляции и т. д. Однако роль этих факторов не изучена.

Развитие ЦП зависит от длительности HCV-инфекции, особенностей организма пациента, его вредных привычек и сопутствующих заболеваний. Системный анализ ряда публикаций показал, что вероятность развития ЦП имеет определенную зависимость от длительности инфекции: через 20 лет она составляет 14–19%, а через 30 лет существенно больше – 36–45% [26]. Скорость развития фиброза печени при ХГС носит нелинейный характер, она несколько больше при переходе из стадии F0 в F1 и из F3 в F4. Возраст инфицирования после 30 лет ассоциирован с более высокой вероятностью развития ЦП.

Среди вредных привычек, негативно влияющих на течение ХГС и способствующих развитию ЦП, надо отметить потребление алкоголя. Сочетанное воздействие алкоголя и хронического воспаления HCV-этиологии приводит к более интенсивному поражению печени с преобладанием вирусного или алкогольного патогенеза, но чаще оно имеет смешанные проявления. Повреждающее действие могут вызвать даже малые дозы этанола. В эксперименте с участием добровольцев показано, что после приема 30 г этанола в сутки в течение 3–4 дней выявляются изменения в гепатоцитах [27]. Для здоровых людей границей безопасного употребления алкоголя в пересчете на чистый неразведенный этанол является 20–40 г/сут для мужчин и в 2 раза меньше для женщин [28].

Установлено, что риск развития НСС у лиц старше 38 лет, больных ХГС, повышается в 3,7 раза при потреблении 260 г алкоголя в неделю (37 г/сут) [29]. Детальные молекулярные механизмы влияния алкоголя на HCV-инфекцию не выявлены. Анализируя влияние алкоголя на пациентов с ХГС, M. Oshita и соавт. [30] обнаружили, что активность гепатита и уровень вирусной нагрузки повышались даже при приеме 10 г алкоголя в сутки. Отмечено, что у части пациентов после отказа от потребления алкоголя наблюдается снижение титра вирусной РНК и активности АЛТ и АСТ [31]. У пациентов, потребляющих повышенные дозы алкоголя, были обнаружены более низкие показатели активности клеточного иммунитета [30]. Отмечено также, что пьющие пациенты с HCV-инфекцией имеют, как правило, более

высокую концентрацию железа в ткани печени по сравнению с больными хроническим гепатитом С, не употребляющими алкоголь. Сочетание всех отмеченных выше факторов приводит к более быстрому формированию ЦП у лиц с ХГС, потребляющих алкоголь в повышенных дозах.

Особенности развития цирроза и гепатокарцинома у детей с ХГС

Для детей характерно более легкое течение ХГС по сравнению со взрослыми больными, что связано с иммунными особенностями детского организма, которые, с одной стороны, не вызывают тяжелых поражений печени, но, с другой – повышают частоту хронизации острого гепатита С [32]. Однако у части детей возможно более агрессивное течение ХГС, причины которого не совсем ясны [33]. Ускорению фиброзирования печени у детей способствует наличие сочетанной инфекции (HIV + HCV, HBV + HCV и особенно присоединение D-инфекции), внутривенной наркомании, развитие аутоиммунного компонента [34], а также наличие гемохроматоза [35] и ожирения [36]. Влияние на процесс развития фиброза печени при ХГС таких иммуногенетических факторов организма больного ребенка, как полиморфизм генов IL28B и IL10, практически не изучено. Имеющиеся сведения относятся к взрослым больным [37].

У 57% детей с ХГС выявляется фиброз разной степени выраженности [35] и у 8–12% – выраженный фиброз или ЦП [38–40]. Развитие цирроза печени в исходе ХГС в детском возрасте, по данным разных авторов, составляет от 0% [38] до 7–10% [35, 41, 42]. Исследования в этой области малочисленны и, как правило, имеют ряд недостатков: незначительное число наблюдений, разные критерии включения пациентов с ХГС (сопутствующая онкопатология, коинфекция), оценка только декомпенсированных стадий ЦП, что затрудняет интерпретацию этих данных и сравнение их между собой. У детей с ЦП, развившимся на фоне хронических вирусных гепатитов, по данным С.Б. Чуелова и соавт. [43], ведущее место занимает HCV-инфекции (39%). В работе Б.С. Каганова и соавт. [44] показана значительная доля цирроза HBV/HDV-этиологии.

Отечественными и зарубежными авторами по-разному оценивается процесс фиброзирования ткани печени у детей [45, 46]. Так, И.А. Соловьева и соавт. [47] показали у 33% детей старше 15 лет прогрессирование фиброза ткани печени до стадии F3 по шкале METAVIR. Другие исследователи выделяют быстрое прогрессирование, как отдельный вариант течения болезни [48, 49]. С.Б. Чуелов и соавт. [49] отмечают, что ЦП HCV-этиологии у наблюдаемых ими детей формировался в ранние сроки от момента инфицирования ($5,9 \pm 2,5$ года), не зависел от половой принадлежности, способа инфицирования, генотипа HCV, особенностей предшествующих и сопутствующих заболеваний. Эти авторы предлага-

ют выделять такое течение в самостоятельную форму болезни. Возможно, что выраженность фиброза и ЦП у детей зависят от длительности инфекции и от вирусной нагрузки в момент инфицирования [35, 50].

Связь между генотипом вируса, вирусной нагрузкой и степенью поражения печеночной ткани признается не всеми исследователями [34]. Хотя ускоренное фиброзирование чаще отмечается у детей, инфицированных вирусом 1-го генотипа, но последние публикации свидетельствуют, что это характерно и для 3-го генотипа [51]. Работ, достоверно свидетельствующих об ассоциации определенного генотипа вируса с процессом быстрого развития фиброза у инфицированных детей, нет. Тем не менее в большинстве работ, посвященных ЦП HCV-этиологии, обнаруживался вирус 1-го генотипа. Возможно, это связано с его широким распространением. Но в последние годы доля 1-го генотипа снизилась, а 3-го генотипа повысилась как в России, так и в Европе, особенно значимо у детей и молодых людей [52]. Связь развития ЦП с путями инфицирования достоверно не подтверждается, тем не менее в большинстве исследований ЦП развивался при частых переливаниях крови. Однако, по данным F. Bortolotti и соавт. [53], у 5 из 6 детей с декомпенсированным ЦП был выявлен вирус субтипа 1a и установлен перинатальный путь передачи инфекции [53].

НСС крайне редкое явление в детском возрасте. В печати сообщается о двух случаях этой патологии у детей: первый – у 13-летней девочки, инфицированной HCV после трансплантации стволовых клеток с отягощенным семейным анамнезом по онкологической патологии и получавшей терапию гормоном роста и глюкокортикоидами и, второй – у 14-летней афроамериканской девочки с ХГС, инфицированной перинатально от матери с HIV/HCV-коинфекцией [40]. У ребенка HIV не обнаружен.

Молекулярно-биохимические основы фиброгенеза и гепатоканцерогенеза при ХГС

Вирус, проникнув в клетку, запускает синтез собственных белков и нуклеиновых кислот, одновременно блокируя механизмы внутриклеточной защиты. Если ему это удастся, то в клетке развивается длительная репликация вируса, сопровождающаяся изменениями в клеточном цикле, развитием окислительного и эндоплазматического стресса, изменением регуляции сигнальных механизмов, что в дальнейшем приведет к гибели или трансформации клетки.

Следующим этапом после проникновения вируса в клетку являются синтез и созревание белков ВГС, после чего начинается сборка репликативного комплекса. Образующаяся минус-цепь РНК ВГС на матрице геномной плюс-цепи приводит к появлению в клетке двуцепочечной РНК, что не характерно для клеток человека. Специальные белки клетки (RIG-1,

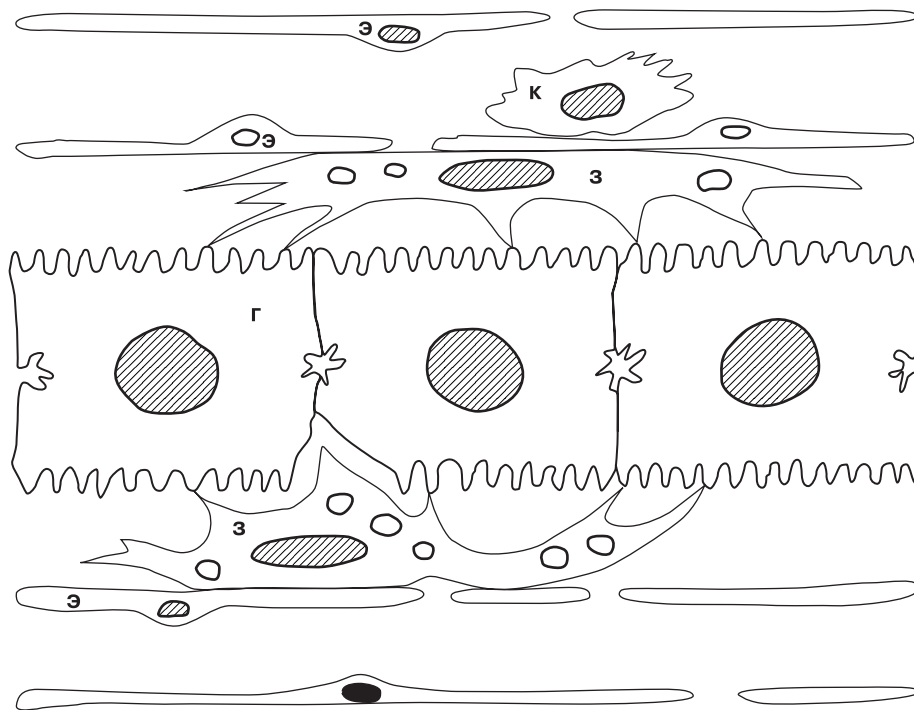


Рис. 1. Схема расположения клеток в паренхиме печени представлена по М. Sato и соавт. в легкой модификации [57]. В центре гепатоциты (г), под и над ними звездчатые клетки (з), над звездчатыми клетками эндотелиальные клетки (э), сверху над последними клетка Купфера (к).

PRR, TLR, Nod-LR) распознают чужеродные для нее вирусные молекулы (нуклеиновые кислоты и белки) и передают сигнал о наличии неклоточных структур, запуская защитные механизмы клетки [54]. Они же обеспечивают координацию действий между инфицированными гепатоцитами, звездчатыми клетками, печеночными макрофагами (клетки Купфера), дендритными клетками, естественными киллерами (NK-клетки) и некоторыми другими клетками иммунной системы [55, 56]. Тонкая цепь взаимодействий очень сложна и интенсивно изучается в последние десятилетия. Схема расположения различных клеток в паренхиме печени приведена на рис. 1.

Вклад в повреждение печени при ХГС вносят специфические $CD8^+$ Т-клеточные реакции, направленные на элиминацию вируса путем выброса специальных молекул (перфоринов и гранзимов), повреждающих совокупность клеток. В организме части больных ХГС наблюдается снижение интенсивности цитотоксического иммунного ответа как реакции на повреждение паренхимы. При этом происходит продукция ингибирующих факторов PD-1, CTLA-4, Tim-3 и протвовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF β [11].

По мере развития воспалительного процесса в печени происходит активация звездчатых клеток, они теряют ретиноидные включения (где депонируется витамин А) и превращаются в клетки, подобные фибробластам или миофибробластам, которые начинают продуцировать экстрацеллюлярный матрикс

[56]. Это первый этап в развитии фиброза, который будет прогрессировать (если не будет проведена терапия) и через некоторый период времени может привести к циррозу. Активированные звездчатые клетки ответственны за выработку пролиферативного фактора роста PDGF и цитокина TGF β , обладающего профибротическим действием [58, 59]. При циррозе в гепатоцитах отмечаются изменения в структуре хромосом, происходит укорочение теломер [60]. Однако апоптоза таких клеток, с поврежденной структурой хромосом и ДНК, не происходит. Недавно обнаружено, что звездчатые клетки экспрессируют молекулярные маркеры стволовых клеток (CD133, c-kit, p75) и имеют сигнальные пути, характерные для клеточной дифференциации [61, 62]. Вероятно, звездчатые клетки вовлечены и в канцерогенез. При ХГС активация звездчатых клеток происходит на фоне сниже-

ния пролиферации гепатоцитов, также обнаружено, что повышенное содержание железа отмечается при низком содержании сывороточного гепсидина [63, 64]. Недавно установлено, что печеночные макрофаги, а не дендритные клетки поддерживают звездчатые клетки в активированном состоянии и тем самым способствуют развитию фиброза [65].

Гепатоканцерогенез — это сложный много-ступенчатый процесс, включающий генетические мутации и эпигенетические изменения, активацию клеточных онкогенов и инактивацию генов-онкосупрессоров (p53, p73, p21, p14, p15), а также дисбаланс ключевых клеточных сигнальных путей: Wnt/ β -катенина, pRb, Ras, MAPK, JAK/STAT, PI3K/Akt и продукции факторов роста: эпидермального фактора и трансформирующего ростового фактора- β (TGF β) [66–69]. Сочетание этих процессов на определенном этапе времени делают инфицированную клетку способной к неконтролируемому делению, росту и малигнизации.

Развитие молекулярно-генетических методов и подходов (дифференциальные дисплеи, серийный анализ экспрессии генов, микроэрреи) сделали возможным сравнительные исследования между нормальными и трансформированными клетками в масштабе генома и транскриптома человека [70]. Используя серийный анализ экспрессии генов и микроэрреи, удалось обнаружить различия в регуляции генов при ХГВ и ХГС [71, 72]. В случае ХГВ гены, ответственные за индукцию апоптоза, остановки клеточного цикла и деградацию экстрацеллюлярно-

го матрикса, были активированы. А при ХГС была усилена активность генов, ответственных за анти-апоптотический эффект, убыстрение клеточного цикла и накопление экстрацеллюлярного матрикса. В настоящее время идет период интенсивного появления молекулярно-генетических данных, проявляющих причинно-следственные связи при развитии цирроза и гепатокарциномы у пациентов с ХГС.

Факторы вируса, ассоциированные с развитием цирроза и гепатокарциномы печени у пациентов с ХГС

Ряд белков HCV модифицирует сигнальные пути и гены инфицированной клетки, что нарушает регуляцию транскрипции, трансляции и посттрансляционные модификации. К числу таких вирусных белков относятся core (нуклеокапсидный), NS3 и NS5A. В жизненном цикле вируса core-белок выполняет роль инициатора сборки нуклеокапсида и формирует его, протеин NS3 – ключевой протеолитический фермент, который выщепляет неструктурные вирусные белки из полипротеина, белок NS5A участвует в формировании репликативного комплекса и некоторых других малоизученных процессах.

Внутри инфицированной клетки нуклеокапсидный белок принимает участие в остановке сигнала апоптоза, накоплении свободных радикалов кислорода, изменении сигнальных путей, нарушении липидного метаболизма, антивирусной защиты и активности генов-онкосупрессоров [67, 73]. Он вносит существенный вклад в развитие патогенетических изменений в паренхиме печени, в развитие цирроза и индукции канцерогенеза. В ряде публикаций выявлены достоверные различия в нуклеотидной последовательности зоны генома, кодирующей core-белок, у пациентов с циррозом и гепатокарциномой печени [74–76]. Core-протеин может связываться с клеточным белком-онкосупрессором p73, что приводит к транслокации вирусного белка в ядро, где он взаимодействует с генами p53 и p21 [76, 77]. В результате этих взаимодействий нарушается контроль клеточного цикла и увеличивается вероятность трансформации клетки. Нуклеокапсидный белок HCV активирует сигнальные пути клетки Raf/MARK и Wnt/β-катенина, что приводит к росту и пролиферации инфицированных гепатоцитов [77, 78]. На рис. 2 представлена схема эффектов core-белка, которые приводят к различным нарушениям [79].

Белок NS3 ингибирует активность экспрессии генов p21 и p53, как и core-протеин [80]. Он также увеличивает рост клеток и продукцию цитокина TGFβ [81, 82].

Вирусный белок NS5A локализуется на мембранах эндоплазматической сети и является важным компонентом репликативного комплекса HCV. Обнаружены различия в нуклеотидной последовательности зоны, кодирующей этот белок, у пациентов с НСС по сравнению с больными без НСС, но с ЦП [83]. Белок NS5A может взаимодействовать с кле-

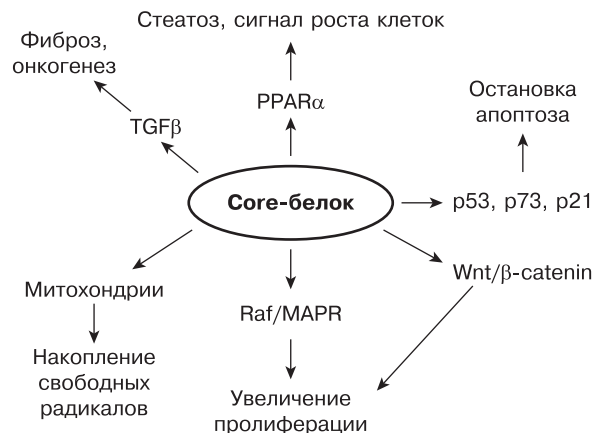


Рис. 2. Схема влияния core-белка на сигнальные биохимические пути клетки дана по S. Jeong и соавт. в легкой модификации [79].

точными белками, контролирующими клеточный цикл и апоптоз (как и core-протеин), и липидный метаболизм [84–86]. Недавно показано, что он может проникать в ядро клетки и взаимодействовать с промоторами клеточных генов, распознавать транскрипционный активатор гена p53 [87, 88].

Еще ряд полипептидов HCV влияет на клеточные процессы. Хотя их прямое участие в гепатоканцерогенезе не доказано, но они способствуют сохранению хронической инфекции в клетке. Это белки E2, NS2, NS4A и NS4B. Гликопротеин E2 препятствует остановке синтеза вирусных белков [89], а белок NS2 – сигнала апоптоза в инфицированной клетке [90]. Полипептиды NS4A и NS4B принимают участие в блокировке защитных механизмов клетки [91].

Этногенетические факторы пациента, ассоциированные с развитием цирроза и гепатокарциномы печени

К факторам, влияющим на вероятность развития цирроза и гепатокарциномы у больных ХГС, относятся этногенетические особенности, под которыми понимают преобладающие в данной популяции полиморфизмы генов. В последнее время изучению роли этих факторов в развитии ЦП и особенно НСС уделяют большое внимание.

При ХГС отмечается накопление свободных радикалов в цитоплазме гепатоцитов и развитие окислительного стресса, что может приводить к повреждению ДНК, белков, липидов и клеточных органелл. Полиморфизм генов ферментов, влияющих на окислительные реакции в клетке, связан с канцерогенезом, потому что эти ферменты участвуют в предотвращении окислительного стресса. Недавно установлено, что полиморфизм фермента миелопероксидазы (ген MPO), которая экспрессируется в звездчатых клетках и участвует в образовании высокоактивных молекул, влияет на развитие НСС [92]. У пациентов с ХГС, имеющих аллельный вариант GG в полиморфном локусе -453 (G/A) гена MPO, риск развития НСС повышен.

Известно, что избыточное содержание железа в печени приводит к прогрессу фиброзированию этого органа. Существует генетически детерминированное повышенное содержание железа в печени, которое связано с полиморфизмом гена гемохроматоза (HFE). Генетические варианты гена HFE изучают довольно долго, но однозначного мнения о роли его разных аллельных вариантов в развитии цирроза и гепатокарциномы у пациентов с ХГС пока нет. По данным ряда исследователей, полиморфизм наиболее важного локуса C282Y этого гена в разных этнических группах может быть связан с гепатоканцерогенезом, по данным других авторов, такой зависимости нет [93, 94].

Иммуноопосредованные воспалительные реакции при ХГС рассматриваются как одна из причин развития фиброза и ЦП. HCV активирует макрофаги и звездчатые клетки через путь интерлейкина IL-1, который приводит к секреции других провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF. Эти цитокины участвуют в клеточной пролиферации, дифференцировке и ангиогенезе. Выявлено значение однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов этих цитокинов для пациентов монголоидного происхождения, больных ХГС. ОНП в локусах -31 С/Т и -511 С/Т гена IL1 β ассоциированы у этих пациентов с развитием цирроза и гепатокарциномы [95]. Недавно показана связь полиморфизма в локусе -308 G/A гена TNF α с развитием НСС у пациентов монголоидного происхождения, больных ХГС [96]. Наличие хотя бы одной А-аллели увеличивает риск развития гепатокарциномы. Обнаружено также, что полиморфизм еще одного гена цитокина TGF β 1 достоверно чаще определяется у пациентов с циррозом и гепатокарциномой печени [97].

Нарушение структуры ДНК и ферментов, восстанавливающих ее структуру, рассматривается как один из факторов развития канцерогенеза. Установлена связь между полиморфизмом генов MTHFR и TYMS (которые кодируют ферменты, необходимые для синтеза, метилирования и репарации ДНК) и развитием гепатокарциномы у пациентов с ХГВ и ХГС разного этнического происхождения [98]. Сочетание вариантов полиморфных локусов rs1801133 C/C и rs1801131 T/T гена MTHFR и 6-нуклеотидной делеции в локусе 1494 с 3'-конца гена TYMS снижало риск развития НСС.

Известно, что ген p53 кодирует белок-онкосупрессор. Потеря транскрипционной активности гена p53 позволяет поврежденным клеткам проходить точку контроля клеточного цикла и становиться неуправляемыми. Выявлен полиморфизм в гене MDM2, продукт которого регулирует активность p53. Недавно показано, что при генотипе GG в полиморфном локусе -309 G/T гена MDM2 существует высокий риск развития гепатокарциномы у пациентов с ХГС [99].

В последнее время большое внимание уделяют изучению роли эпидермального фактора роста (его

кодирует ген EGF), который участвует в клеточной трансформации и росте опухоли. Установлено, что ОНП в полиморфном локусе rs4444903 A/G этого гена влияет на содержание эпидермального фактора роста. Недавно показано, что у пациентов с ХГС разного этнического происхождения генетический вариант G/G в этом локусе ассоциирован с очень высоким риском развития гепатокарциномы, чем при генотипе A/A [100].

Одним из факторов, приводящих к канцерогенезу, может быть сбой в регуляции синтеза белков в инфицированной клетке. Генетические исследования последних лет показали важную роль в регуляции экспрессии белков низкомолекулярных нетранслируемых РНК. Их называют микроРНК (миРНК), они связываются с матричными РНК клетки и таким образом регулируют экспрессию белков. Установлено, что полиморфизм G/C в локусе rs2910164 гена miR-146a влияет на формирование активной формы миРНК и увеличение клеточной пролиферации [101]. При генотипе G/G в этом локусе у пациентов с ХГВ и ХГС риск развития гепатокарциномы был увеличен в 2 раза [102].

В последние годы благодаря развитию геномных технологий стало возможным анализировать огромные данные, полученные от тысяч пациентов по сотни тысяч ОНП, что значительно повышает достоверность результатов. Недавно в Японии, используя такие технологии, была выявлена связь ОНП в гене MICA (кодирует белок врожденной иммунной системы, активирующий NK- и Т-клетки) с риском развития гепатокарциномы у больных с ХГС [103]. Авторы проанализировали 12 полиморфных локусов этого гена и выявили четко выраженную ($p = 1,82 \cdot 10^{-5}$) зависимость генотипа G/G в локусе rs2596538 с развитием НСС у больных ХГС. Еще в одном исследовании, выполненном в Японии, установлена ассоциация полиморфного локуса rs1012068 в 22-й хромосоме у зоны DEPDC5 с высоким риском развития гепатокарциномы [104]. Ни роль этой зоны, ни функциональная значимость этого полиморфного локуса еще не установлены.

Таким образом, генетические особенности пациентов могут существенно повышать риск развития цирроза и гепатокарциномы печени при наличии неблагоприятных ОНП в генах, продукты которых участвуют в контроле окислительного стресса и целостности структуры ДНК, в накоплении железа, воспалительных реакциях, в регуляции активности генов-онкосупрессоров, а также генов, контролирующих активность NK- и Т-клеток.

Новые и традиционные подходы к терапии ЦП у пациентов с ХГС

Пациентам в стадии, близкой к циррозу, или с компенсированным ЦП необходимо проводить антивирусную терапию, чтобы сдержать дальнейшее развитие фиброза и снизить риск развития гепатокарциномы [105]. Однако известно, что выраженный

фиброз препятствует достижению устойчивого вирусологического ответа (УВО) при двойной терапии пегилированным ИФН- α_2 (пегИФН- α_2) и рибавирином [105, 106]. Кроме того, у таких пациентов часто развиваются негативные сопутствующие эффекты, такие как лейко- и тромбоцитопения и анемия.

В настоящее время в международных рекомендациях предлагается, если пациенты инфицированы вирусом генотипа 1 (и генотипом 3, как показано недавно), то перед назначением двойной терапии надо установить аллельный вариант больного по полиморфному локусу rs12979860 гена IL28B [2]. Частота достижения УВО у пациентов с ЦП при аллельном варианте CC локуса rs12979860 существенно выше [106]. Пациентам с неблагоприятными вариантами данного гена лучше назначать препараты направленного действия, которые появились недавно [107].

Препараты направленного противовирусного действия повышают вероятность достижения УВО для пациентов в состоянии, близком к ЦП, или с циррозом. К таким препаратам первого поколения, разрешенным к применению в нашей стране, относятся ингибиторы сериновой протеазы HCV теллапревир и боцепревир, которые назначаются пациентам, инфицированным вирусом 1-го генотипа в сочетании с пегИФН- α_2 и рибавирином (тройная терапия). Еще около 40 фармакологических веществ и разных схем лечения, включая и сочетание только ингибиторов и рибавирина, находятся на разных стадиях испытаний [108].

При тройной терапии с применением ингибитора сериновой протеазы HCV боцепревира достижение УВО увеличивается в среднем на 14% при наличии ЦП, в случае умеренного и выраженного фиброза – на 30% [109]. В случае тройной терапии с применением ингибитора протеазы HCV теллапревира для пациентов с ЦП вероятность достижения УВО повышается на 10–30%, для больных с умеренным и выраженным фиброзом – на 30%. Надо отметить, что пока мало публикаций об эффективности тройной терапии с применением теллапревира и боцепревира у больных с ЦП как в нашей стране, так и за рубежом. Терапия новыми и традиционными препаратами у пациентов с ЦП должна проводиться с учетом более высокой вероятности побочных эффектов, чем у остальных пациентов с ХГС.

ЛИТЕРАТУРА

- Мукомолов С.Л., Левакова И.А., Сулягина Л.Г., Синайская Е.В., Болсун Д.Д., Иванова Н.В. Современная эпидемиология гепатита С в России. <https://hepexpert.ru>. 2012; 1–6.
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J. Hepatol.* 2011; 55: 245–64.
- Mosley J.W., Operskalski E.A., Tobler L.H. et al. Viral and host factors in early hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2005; 42: 86–92.
- Thomas D.L. Global control of hepatitis C: where challenge meets opportunity. *Nature Med.* 2013; 19 (7): 850–8.
- Нечаев В.В., Мукомолов С.Л., Назаров В.Ю. и др. Эволюция эпидемического процесса хронических гепатитов в Санкт-Петербурге. *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга.* 2011; 1: 21–4.
- Alter M.J. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J. Gastroenterol.* 2007; 13: 2436–41.
- Самохвалов Е.И., Николаева Л.И., Альховский С.В. и др. Частота встречаемости отдельных субтипов вируса гепатита С в Московском регионе. *Вопросы вирусологии.* 2013; 1: 36–40.
- Thomas D.L., Seeff L.B. The natural history of hepatitis C. *Clin. Liver Dis.* 2005; 9: 383–98.
- Kew M.C. The role of cirrhosis in the etiology of hepatocellular carcinoma. *J. Gastrointest. Cancer.* 2013; PMID: 24203525.
- Caldwell S., Park S.H. The epidemiology of hepatocellular cancer: from the perspectives of public health problem to tumor biology. *J. Gastroenterol.* 2009; 44 (Suppl. 19): 96–101.
- Rehermann B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells. *Nature Med.* 2013; 19 (7): 859–68.
- Davis G.L., Alter M.J., El-Serag H., Poynard T., Jennigs L.W. Aging of hepatitis C virus (HCV)-infected persons in the United States: a multiple cohort model of HCV prevalence and disease progression. *Gastroenterology.* 2010; 138: 513–21.
- Lehman E.M., Wilson M.L. Epidemic hepatitis C virus infection in Egypt: estimates of past incidence and future morbidity and mortality. *J. Viral Hepat.* 2009; 16: 650–8.
- Deuffic S., Buffat L., Poynard T., Valleron A.J. Modeling the hepatitis C virus epidemic in France. *Hepatology.* 1999; 29: 1596–601.
- El-Serag H.B. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2012; 142: 1264–73.
- El-Serag H.B., Rudolph K.L. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology.* 2007; 132: 2557–76.
- Tanaka Y., Kurbanov F., Mano S., Orito E., Vargas V., Esteban J.I. et al. Molecular tracing of the global hepatitis C virus epidemic predicts regional patterns of hepatocellular carcinoma mortality. *Gastroenterology.* 2006; 130:703–14.
- Haydon G.H., Jarvis L.M., Simmonds P., Hayes P.C. Association between chronic hepatitis C infection and hepatocellular carcinoma. *Lancet.* 1995; 345: 928–9.
- Schvoerer E., Soulier E., Royer C., Renaudin A.C., Thumann C., Fafi-Kremer S. et al. Early evolution of hepatitis C virus (HCV) quasispecies after liver transplant for HCV-related disease. *J. Infect. Dis.* 2007; 196: 528–36.
- Raimondi S., Bruno S., Mondelli M.U., Maisonneuve P. Hepatitis C virus genotype 1b as a risk factor for hepatocellular carcinoma development: a meta-analysis. *J. Hepatol.* 2009; 50: 1142–54.
- Wise M., Finelli L., Sorvillo F. Prognostic factors associated with hepatitis C disease: a case-control study utilizing U.S. multiple-cause-of-death data. *Publ. Hlth Rep.* 2010; 125: 414–22.
- Yuan J.M., Ross R.K., Stanczyk F.Z., Govindarajan S., Gao Y.T., Henderson B.E., Yu M.C. A cohort study of serum testosterone and hepatocellular carcinoma in Shanghai, China. *Int. J. Cancer.* 1995; 63: 491–3.
- Nguyen H.V., Mollison L.C., Taylor T.W., Chubb S.A., Yeap B.B. Chronic hepatitis C infection and sex hormone levels: effect of disease severity and recombinant interferon-alpha therapy. *Intern. Med. J.* 2006; 36: 362–6.
- Tanaka K., Sakai H., Hashizume M., Hirohata T. Serum testosterone: estradiol ratio and the development of hepatocellular carcinoma among male cirrhotic patients. *Cancer Res.* 2000; 60: 5106–10.
- White D.L., Tavakoli-Tabasi S., Kuzniarek J., Pascua R., Ramsey D.J., El-Serag H.B. Higher serum testosterone is associated with increased risk of advanced hepatitis C-related liver disease in males. *Hepatology.* 2012; 55: 759–68.
- Thein H.H., Yi Q., Dore G.J., Krahn M.D. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression. *Hepatology.* 2008; 48 (2): 418–31.
- Brunt P.W., Kew M.C., Scheuer P.J., Sherlock S. Studies in alcoholic liver disease in Britain. I. Clinical and pathological patterns related to natural history. *Gut.* 1974; 1: 52–8.

28. Лопаткина Т.Н., Танащук Е.Л. Алкогольная болезнь печени. Вирусные гепатиты: перспективы и достижения. 2001; 1: 11–6.
29. Thomas D.L., Astemborski J., Rai R.M., Anania F.A., Schaeffer M., Galai N. et al. The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral, and environmental factors. *J. A. M. A.* 2000; 284: 450–6.
30. Oshita M., Hayashi N., Kashahara A., Hagiwara H., Mita E., Naito M. et al. Increased serum hepatitis C virus RNA levels among alcoholic patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 1994; 20: 1115–20.
31. Safdar K., Schiff E.R. Alcohol and hepatitis C. *Semin. Liver Dis.* 2004; 24: 305–15.
32. Moreno-Otero R., Trapero M., Jara P. Liver histology damage in children with chronic hepatitis C. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2010; 29: 189–90.
33. Jonas M.M. Children with hepatitis C. *Hepatology.* 2002; 36 (Suppl. 1): S173–8.
34. Филимонов П.Н. Патоморфология хронических сочетанных вирусных гепатитов у детей: Дисс. Новосибирск; 2005.
35. Badizadegan K., Jonas M.M., Ott M.J., Nelson S.P., Perez-Atayde A.R. Histopathology of the liver in children with chronic hepatitis C viral infection. *Hepatology.* 1998; 28: 1416–23.
36. Delgado-Borrego A., Healey D., Negre B., Christofi M., Sabharwal S., Ludwig D.A. et al. Influence of body mass index on outcome of pediatric chronic hepatitis C virus infection. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2010; 51: 191–7.
37. Marco V.D., Bronte F., Calvaruso V., Capra M., Borsellino Z., Maggio A. et al. IL28B polymorphisms influence stage of fibrosis and spontaneous or interferon-induced viral clearance in thalassemia patients with hepatitis C virus infection. *Haematologica.* 2012; 97: 679–86.
38. Broide E., Reif S., Brazovski E., Shapira R., Weiss B., Bujanover Y. et al. Chronic hepatitis C in Israeli children. *Fetal. Pediatr. Pathol.* 2004; 23: 231–9.
39. Abdel-Hady M., Bunn S.K., Sira J., Brown R.M., Brundler M.A., Davies P. et al. Chronic hepatitis C in children – review of natural history at a National Centre. *J. Viral Hepat.* 2011; 18: 535–40.
40. González-Peralta R.P., Langham M.R. Jr., Andres J.M., Mohan P., Colombani P.M., Alford M.K. et al. Hepatocellular carcinoma in 2 young adolescents with chronic hepatitis C. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2009; 48: 630–5.
41. Строкова Т.В. Клиническое течение и интерферонотерапия хронического гепатита С у детей. Вопросы современной педиатрии. 2002; 2: 17.
42. Mohan P., Colvin C., Glymph C., Chandra R.R., Kleiner D.E., Patel K.M. et al. Clinical spectrum and histopathologic features of chronic hepatitis C infection in children. *J. Pediatr.* 2007; 150: 168–74.
43. Чуелов С.Б., Россина А.Л., Смирнов А.В., Брюсова И.Б., Волкова Г.И., Иванова Ю.Н. и др. Этиологическая структура циррозов печени у детей. Детские инфекции. 2008; 7: 14–8.
44. Каганов Б. С., Зайнудинов З. М., Строкова Т. В., Готье С.В., Цырюльников О.М. Критерии диагностики и клиническое течение цирроза печени у детей. Инфекционные болезни. 2008; 6: 14–21.
45. Guido M., Bortolotti F., Leandro G., Jara P., Hierro L., Larrauri J. et al. Fibrosis in chronic hepatitis C acquired in infancy: is it only a matter of time? *Am. J. Gastroenterol.* 2003; 98: 660–3.
46. Jara P., Resti M., Hierro L., Giacchino R., Barbera C., Zancan L. et al. Chronic hepatitis C virus infection in childhood: Clinical patterns and evolution in 224 white children. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 36: 275–80.
47. Соловьева И.А., Мартынова Г.П., Савченко А.А. Клинико-эпидемиологическая характеристика хронических гепатитов В и С у подростков. Детские инфекции. 2012; 4: 19–22.
48. Iorio R., Giannattasio A., Sepe A., Terracciano L.M., Vecchione R., Vegnente A. Chronic hepatitis C in childhood: an 18-year experience. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41: 1431–7.
49. Чуелов С.Б., Нисевич Н.И., Гаспарян М.О., Молочкова О.В., Чаплыгина Г.В., Брюсова И.Б. и др. Клиника, диагностика и течение цирроза печени при HCV-инфекции у детей. Детские инфекции. 2005; 1: 22–9.
50. Молочкова О.В., Чередниченко Т.В., Гаспарян М.О., Чаплыгина Г.В. Течение гепатита С у детей. Детские инфекции. 2002; 1: 21–3.
51. Probst A., Dang T., Bochud M., Egger M., Negro F., Bochud P.Y. Role of hepatitis C virus genotype 3 in liver fibrosis progression – a systematic review and meta-analysis. *J. Viral Hepat.* 2011; 18: 745–59.
52. Николаева Л.И., Тойчуев П.М., Лейбман Е.А., Гришечкин А.Е., Оморбекова Ч.Т., Ахмедова Д.П. и др. Факторы, влияющие на течение хронического гепатита С у детей. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2013; 6: 37–44.
53. Bortolotti F., Verucchi G., Cammà C., Cabibbo G., Zancan L., Indolfi G. et al. Long-term course of chronic hepatitis C in children: from viral clearance to end-stage liver disease. *Gastroenterology.* 2008; 134: 1900–7.
54. Horner S.M., Gale M.Jr. Regulation of hepatic innate immunity by hepatitis C virus. *Nature Med.* 2013; 19: 879–88.
55. Bowen D.G., Walker C.M. Adaptive immune responses I acute and chronic hepatitis C virus infection. *Nature.* 2005; 436: 946–52.
56. Senoo H., Yoshikawa K., Morii M., Tmai K., Mezaki Y. Hepatic stellate cell (vitamin A – storing cell) and its relative – past, present and future. *Cell Biol. Int.* 2010; 34: 1247–72.
57. Sato M., Suzuki S., Senoo H. Hepatic stellate cells: unique characteristics in cell biology and phenotype. *Cell Struct. Funct.* 2003; 28: 105–12.
58. Friedman S.L., Arthur M.J. Activation of cultured rat hepatic lipocytes matrix synthesis and stimulation of cell proliferation via induction of platelet-derived growth factor receptors. *J. Clin. Invest.* 1989; 84: 1780–5.
59. Matsuzaki K. Modulation of TGF-beta signaling during progression of chronic liver diseases. *Front. Biosci.: J. Virtual Library.* 2009; 14: 2923–34.
60. Satyanarayana A., Manns M.P., Rudolph K.L. Telomeres and telomerase: a dual role in hepatocarcinogenesis. *Hepatology.* 2004; 40: 786–83.
61. Fujio K., Evarts R.P., Hu Z., Marsden E.R., Thorgeirsson S.S. Expression of stem cell factor and its receptor, c-kit, during liver regeneration from putative stem cells in adult rat. *Lab. Invest.: J. Techn. Meth. Pathol.* 1994; 70: 511–6.
62. Kordes C., Sawitza I., Muller-Marbach A., Ale-Agha N., Keitel V., Klonowski-Stumpe H. et al. CD133+ hepatic stellate cells are progenitor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007; 352: 410–7.
63. Behnke M.K., Reimers M., Fisher R.A. Stem cell and hepatocyte proliferation in hepatitis C cirrhosis and hepatocellular carcinoma: transplant implications. *Ann. Hepatol.* 2013; 13: 45–53.
64. Hörl W.H., Schmidt A. Low hepcidin triggers hepatic iron accumulation in patients with hepatitis C. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2013; PMID: 24286977.
65. Pradere J.P., Kluwe J., de Minicis S., Jiao J.J., Gwak G.Y., Dapito D.H. et al. Hepatic macrophages but not dendritic cells contribute to liver fibrosis by promoting survival of activated hepatic stellate cells in mice. *Hepatology.* 2013; 58: 1461–73.
66. Branda M., Wands J.R. Signal transduction cascades and hepatitis B and C related hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2006; 43: 891–902.
67. Llovet J.M., Bruix J. Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2008; 48: 1312–27.
68. Tsai W.L., Chung R.T. Viral hepatocarcinogenesis. *Oncogene.* 2010; 29: 2309–24.
69. Zekri Ael-R., Nassar A.A., El-Din El-Rouby M.N., Shousha H.I., Barakat A.B., El-Desouky E.D. et al. Disease progression from chronic hepatitis C to cirrhosis and hepatocellular carcinoma is associated with increasing DNA promoter methylation. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2013; 14: 6721–6.
70. Yamashita T., Honda M., Kaneko S. Application of serial analysis of gene expression in cancer research. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2008; 9: 375–82.
71. Honda M., Kaneko S., Kawai H., Shiota Y., Kobayashi K. Differential gene expression between chronic hepatitis B and C hepatic lesion. *Gastroenterology.* 2001; 120: 955–66.
72. Yamashita T., Kaneko S., Hashimoto S., Sato T., Nagai S., Toyo-

- da N. et al. Serial analysis of gene expression in chronic hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 282: 647–54.
73. Anzola M. Hepatocellular carcinoma: role of hepatitis B and hepatitis C viruses proteins in hepatocarcinogenesis. *J. Viral Hepat.* 2004; 11: 383–93.
 74. Akuta N., Suzuki F., Kawamura Y., Yatsuji H., Sezaki H., Suzuki Y. et al. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are the important predictor of hepatocarcinogenesis. *Hepatology.* 2007; 46: 1357–64.
 75. Fishman S.L., Factor S.H., Balestrieri C., Fan X., Dibisceglie A.M., Desai S.M. et al. Mutations in the hepatitis C virus core gene are associated with advanced liver disease and hepatocellular carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15: 3205–13.
 76. Araujo O.C., Barros J.J., do O K.M., Nabuco L.C., Luz C.A., Perez R.M. et al. Genetic variability of hepatitis B and C viruses in Brazilian patients with and without hepatocellular carcinoma. *J. Med. Virol.* 2014; 86: 217–23.
 77. Yamanaka T., Kodama T., Doi T. Subcellular localization of HCV core protein regulates its ability for p53 activation and p21 suppression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 294: 528–34.
 78. Kwun H.J., Jang K.L. Dual effects of hepatitis C virus Core protein on the transcription of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 gene. *J. Viral Hepat.* 2003; 10: 249–55.
 79. Jeong S.W., Jang J.Y., Chung R.T. Hepatitis C virus and hepatocarcinogenesis. *Clin. Mol. Hepatol.* 2012; 18: 347–56.
 80. Kwun H.J., Jung E.Y., Ahn J.Y., Lee M.N., Jang K.L. p53-dependent transcriptional repression of p21 (waf1) by hepatitis C virus NS3. *J. Gen. Virol.* 2001; 82: 2235–41.
 81. Hassan M., Ghazlan H., Abdel-Kader O. Activation of c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) signaling pathway is essential for the stimulation of hepatitis C virus (HCV) non-structural protein 3 (NS3)-mediated cell growth. *Virology.* 2005; 333: 324–36.
 82. Hassan M., Selimovic D., Ghazlan H., Abdel-Kader O. Induction of high-molecular-weight (HMW) tumor necrosis factor(TNF) alpha by hepatitis C virus (HCV) non-structural protein 3 (NS3) in liver cells is AP-1 and NF-kappaB-dependent activation. *Cell. Signal.* 2007; 19: 301–11.
 83. De Mitri M.S., Cassini R., Bagaglio S., Morsica G., Andreone P., Marino N. et al. Evolution of hepatitis C virus non-structural 5A gene in the progression of liver disease to hepatocellular carcinoma. *Liver Int.* 2007; 27: 1126–33.
 84. Higgs M.R., Lerat H., Pawlotsky J.M. Hepatitis C virus-induced activation of β -catenin promotes c-Myc expression and a cascade of pro-carcinogenic events. 2013; 32: 4683–93.
 85. Benga W.J., Krieger S.E., Dimitrova M., Zeisel M.B., Parnot M., Lupberger J. et al. Apolipoprotein E interacts with hepatitis C virus nonstructural protein 5A and determines assembly of infectious particles. *Hepatology.* 2010; 51: 43–53.
 86. Kim K., Kim K.H., Ha E., Park J.Y., Sakamoto N., Cheong J. Hepatitis C virus NS5A protein increases hepatic lipid accumulation via induction of activation and expression of PPARgamma. *FEBS Lett.* 2009; 583: 2720–6.
 87. Maqbool M.A., Imache M.R., Higgs M.R., Carmouse S., Pawlotsky J.M., Lerat H. Regulation of hepatitis C virus replication by nuclear translocation of nonstructural 5A protein and transcriptional activation of host genes. *J. Virol.* 2013; 87: 5523–39.
 88. Majumder M., Ghosh A.K., Steele R., Ray R., Ray R.B. Hepatitis C virus NS5A physically associates with p53 and regulates p21/waf1 gene expression in a p53-dependent manner. *J. Virol.* 2001; 75: 1401–7.
 89. Pavio N., Taylor D.R., Lai M.M. Detection of a novel unglycosylated form of hepatitis C virus E2 envelope protein that is located in the cytosol and interacts with PKR. *J. Virol.* 2002; 76: 1265–72.
 90. Erdtmann L., Franck N., Lerat H., Le Seyec J., Gilot D., Cannie I. et al. The hepatitis C virus NS2 protein is an inhibitor of CIDE-B-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 18256–64.
 91. Moriyama M., Kato N., Otsuka M. Interferon-beta is activated by hepatitis C virus NS5B and inhibited by NS4A, NS4B, and NS5A. *Hepat. Int.* 2007; 1: 302–10.
 92. Nahon P., Sutton A., Rufat P., Charnaux N., Mansouri A., Moreau R. et al. A variant in myeloperoxidase promoter hastens the emergence of hepatocellular carcinoma in patients with HCV-related cirrhosis. *J. Hepatol.* 2012; 56: 426–32.
 93. Gharib A.F., Karam R.A., Pasha H.F., Radwan M.I., Elsayy W.H. Polymorphisms of hemochromatosis, and alpha-1 antitrypsin genes in Egyptian HCV patients with and without hepatocellular carcinoma. *Gene.* 2011; 489: 98–102.
 94. Ishizu Y., Katano Y., Honda T., Hayashi K., Ishigami M., Itoh A. et al. Clinical impact of HFE mutations in Japanese patients with chronic hepatitis C. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2012; 27: 1112–6.
 95. Wang Y., Kato N., Hoshida Y., Yoshida H., Taniguchi H., Goto T. et al. Interleukin-1beta gene polymorphisms associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2003; 37: 65–71.
 96. Wei Y., Liu F., Li B., Chen X., Ma Y., Yan L. Polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and hepatocellular carcinoma risk: a huge systematic review and meta-analysis. *Dig. Dis. Sci.* 2011; 56: 2227–36.
 97. Radwan M.I., Pasha H.F., Mohamed R.H., Hussien H.I., El-Khshab M.N. Influence of transforming growth factor- β 1 and tumor necrosis factor- α genes polymorphisms on the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients. *Cytokine.* 2012; 60: 271–6.
 98. Yuan J.M., Lu S.C., Van Den Berg D., Govindarajan S., Zhang Z.Q., Mato J.M. et al. Genetic polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase genes and risk of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2007; 46: 749–58.
 99. Dharel N., Kato N., Muroyama R., Moriyama M., Shao R.X., Kawabe T. et al. MDM2 promoter SNP309 is associated with the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 4867–71.
 100. Abu Dayyeh B.K., Yang M., Fuchs B.C., Karl D.L., Yamada S., Sninsky J.J. et al. A functional polymorphism in the epidermal growth factor gene is associated with risk for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2011; 141: 141–9.
 101. Chen K., Song F., Calin G.A., Wei Q., Hao X., Zhang W. Polymorphisms in microRNA targets: a gold mine for molecular epidemiology. *Carcinogenesis.* 2008; 29: 1306–11.
 102. Xu T., Zhu Y., Wei Q.K., Yuan Y., Zhou F., Ge Y.Y. et al. A functional polymorphism in the miR-146a gene is associated with the risk for hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis.* 2008; 29: 2126–31.
 103. Lo P.H., Urabe Y., Kumar V., Tanikawa C., Koike K., Kato N. et al. Identification of a functional variant in the MICA promoter which regulates MICA expression and increases HCV-related hepatocellular carcinoma risk. *PLoS One.* 2013; 11 (8): e61279.
 104. Miki D., Ochi H., Hayes C.N., Abe H., Yoshima T., Aikata H. et al. Variation in the DEPDC5 locus is associated with progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus carriers. *Nature Genet.* 2011; 43: 797–800.
 105. Boccaccio V., Bruno S. Management of HCV patients with cirrhosis with direct acting antivirals. *Liver Int.* 2014; 34 (Suppl. 1): 38–45.
 106. Aghemo A., Degasperis E., Rumi M.G., Galmozzi E., Valenti L., De Francesco R. et al. Cirrhosis and rapid virological response to peginterferon plus ribavirin determine treatment outcome in HCV-1 IL28B rs12979860 CC patients. *Biomed. Res. Int.* 2013; 2013: 580796.
 107. Николаева Л.И., Сапронов Г.В. Вирус гепатита С: мишени для терапии и новые лекарственные препараты. *Вопросы вирусологии.* 2012; 5: 10–5.
 108. Сапронов Г.В., Николаева Л.И. Новые перспективы персонализированной терапии хронического вирусного гепатита С. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2013; 3: 27–36.
 109. Bourlière M., Wendt A., Fontaine H., Hézode C., Pol S., Bronowicki J.P. How to optimize HCV therapy in genotype 1 patients with cirrhosis. *Liver Int.* 2013; 33 (Suppl. 1): 46–55.

REFERENCES

1. Mukomolov S.L., Levakova I.A., Sulyagina L.G., Sinayskaya E.V., Bolsun D.D., Ivanova N.V. Contemporary epidemiology of hepatitis C in Russia. <https://hepexpert.ru>. 2012; 1–6 (in Russian).

2. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J. Hepatol.* 2011; 55: 245–64.
3. Mosley J.W., Operskalski E.A., Tobler L.H. et al. Viral and host factors in early hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2005; 42: 86–92.
4. Thomas D.L. Global control of hepatitis C: where challenge meets opportunity. *Nature Med.* 2013; 19(7): 850–8.
5. Nechaev V.V., Mukomolov S.L., Nazarov V.Yu. et al. Evolution of epidemiological process of chronic hepatitis C in Saint-Petersburg. *Gastroenterology of Saint-Petersburg.* 2011; 1: 21–4 (in Russian).
6. Alter M.J. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J. Gastroenterol.* 2007; 13: 2436–41.
7. Samokhvalov E.I., Nikolaeva L.I., Alkhovskiy S.V. et al. Frequency of detection of different hepatitis C virus subtypes in the Moscow region. *Voprosy virusologii.* 2013; 1: 36–40 (in Russian).
8. Thomas D.L., Seeff L.B. The natural history of hepatitis C. *Clin. Liver Dis.* 2005; 9: 383–98.
9. Kew M.C. The role of cirrhosis in the etiology of hepatocellular carcinoma. *J. Gastrointest. Cancer.* 2013; PMID: 24203525.
10. Caldwell S., Park S.H. The epidemiology of hepatocellular cancer: from the perspectives of public health problem to tumor biology. *J. Gastroenterol.* 2009; 44 (Suppl. 19): 96–101.
11. Rehermann B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells. *Nature Med.* 2013; 19 (7): 859–68.
12. Davis G.L., Alter M.J., El-Serag H., Poynard T., Jennigs L.W. Aging of hepatitis C virus (HCV)-infected persons in the United States: a multiple cohort model of HCV prevalence and disease progression. *Gastroenterology.* 2010; 138: 513–21.
13. Lehman E.M., Wilson M.L. Epidemic hepatitis C virus infection in Egypt: estimates of past incidence and future morbidity and mortality. *J. Viral Hepat.* 2009; 16: 650–8.
14. Deuffic S., Buffat L., Poynard T., Valleron A.J. Modeling the hepatitis C virus epidemic in France. *Hepatology.* 1999; 29: 1596–601.
15. El-Serag H.B. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2012; 142: 1264–73.
16. El-Serag H.B., Rudolph K.L. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology.* 2007; 132: 2557–76.
17. Tanaka Y., Kurbanov F., Mano S., Orito E., Vargas V., Esteban J.I. et al. Molecular tracing of the global hepatitis C virus epidemic predicts regional patterns of hepatocellular carcinoma mortality. *Gastroenterology.* 2006; 130:703–14.
18. Haydon G.H., Jarvis L.M., Simmonds P., Hayes P.C. Association between chronic hepatitis C infection and hepatocellular carcinoma. *Lancet.* 1995; 345: 928–9.
19. Schvoerer E., Soulier E., Royer C., Renaudin A.C., Thumann C., Fafi-Kremer S. et al. Early evolution of hepatitis C virus (HCV) quasispecies after liver transplant for HCV-related disease. *J. Infect. Dis.* 2007; 196: 528–36.
20. Raimondi S., Bruno S., Mondelli M.U., Maisonneuve P. Hepatitis C virus genotype 1b as a risk factor for hepatocellular carcinoma development: a meta-analysis. *J. Hepatol.* 2009; 50: 1142–54.
21. Wise M., Finelli L., Sorvillo F. Prognostic factors associated with hepatitis C disease: a case-control study utilizing U.S. multiple-cause-of-death data. *Publ. Hlth Rep.* 2010; 125: 414–22.
22. Yuan J.M., Ross R.K., Stanczyk F.Z., Govindarajan S., Gao Y.T., Henderson B.E., Yu M.C. A cohort study of serum testosterone and hepatocellular carcinoma in Shanghai, China. *Int. J. Cancer.* 1995; 63: 491–3.
23. Nguyen H.V., Mollison L.C., Taylor T.W., Chubb S.A., Yeap B.B. Chronic hepatitis C infection and sex hormone levels: effect of disease severity and recombinant interferon-alpha therapy. *Intern. Med. J.* 2006; 36: 362–6.
24. Tanaka K., Sakai H., Hashizume M., Hirohata T. Serum testosterone: estradiol ratio and the development of hepatocellular carcinoma among male cirrhotic patients. *Cancer Res.* 2000; 60: 5106–10.
25. White D.L., Tavakoli-Tabasi S., Kuzniarek J., Pascua R., Ramsey D.J., El-Serag H.B. Higher serum testosterone is associated with increased risk of advanced hepatitis C-related liver disease in males. *Hepatology.* 2012; 55: 759–68.
26. Thein H.H., Yi Q., Dore G.J., Krahn M.D. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression. *Hepatology.* 2008; 48 (2): 418–31.
27. Brunt P.W., Kew M.C., Scheuer P.J., Sherlock S. Studies in alcoholic liver disease in Britain. I. Clinical and pathological patterns related to natural history. *Gut.* 1974; 1: 52–8.
28. Lopatkina T.N., Tanaschuk E.L. Alcoholic liver disease. *Virusnye gepatity: perspektivy i dostizheniya.* 2001; 1: 11–6 (in Russian).
29. Thomas D.L., Astemborski J., Rai R.M., Anania F.A., Schaeffer M., Galai N. et al. The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral, and environmental factors. *J. A. M. A.* 2000; 284: 450–6.
30. Oshita M., Hayashi N., Kashahara A., Hagiwara H., Mita E., Naito M. et al. Increased serum hepatitis C virus RNA levels among alcoholic patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 1994; 20: 1115–20.
31. Safdar K., Schiff E.R. Alcohol and hepatitis C. *Semin. Liver Dis.* 2004; 24: 305–15.
32. Moreno-Otero R., Trapero M., Jara P. Liver histology damage in children with chronic hepatitis C. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2010; 29:189–90.
33. Jonas M.M. Children with hepatitis C. *Hepatology.* 2002; 36 (Suppl. 1): S173–8.
34. Filimonov P.N. Pathological morphology in mixed viral hepatitis in children. *Diss. Novosibirsk;* 2005 (in Russian).
35. Badizadegan K., Jonas M.M., Ott M.J., Nelson S.P., Perez-Atayde A.R. Histopathology of the liver in children with chronic hepatitis C viral infection. *Hepatology.* 1998; 28: 1416–23.
36. Delgado-Borrego A., Healey D., Negre B., Christofi M., Sabharwal S., Ludwig D.A. et al. Influence of body mass index on outcome of pediatric chronic hepatitis C virus infection. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2010; 51: 191–7.
37. Marco V.D., Bronte F., Calvaruso V., Capra M., Borsellino Z., Maggio A. et al. IL28B polymorphisms influence stage of fibrosis and spontaneous or interferon-induced viral clearance in thalassaemia patients with hepatitis C virus infection. *Haematologica.* 2012; 97: 679–86.
38. Broide E., Reif S., Brazovski E., Shapira R., Weiss B., Bujanover Y. et al. Chronic hepatitis C in Israeli children. *Fetal. Pediatr. Pathol.* 2004; 23: 231–9.
39. Abdel-Hady M., Bunn S.K., Sira J., Brown R.M., Brundler M.A., Davies P. et al. Chronic hepatitis C in children – review of natural history at a National Centre. *J. Viral Hepat.* 2011; 18: 535–40.
40. González-Peralta R.P., Langham M.R. Jr., Andres J.M., Mohan P., Colombani P.M., Alford M.K. et al. Hepatocellular carcinoma in 2 young adolescents with chronic hepatitis C. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2009; 48: 630–5.
41. Strokova T.V. Clinical course and therapy with interferon of chronic hepatitis C in children. *Voprosy sovremennoy pediatrii.* 2002; 2: 17 (in Russian).
42. Mohan P., Colvin C., Glymph C., Chandra R.R., Kleiner D.E., Patel K.M. et al. Clinical spectrum and histopathologic features of chronic hepatitis C infection in children. *J. Pediatr.* 2007; 150: 168–74.
43. Chuelov S.B., Rossina A.L., Smirnov A.V., Brusova I.B., Volkova G.I., Ivanova Yu.N. et al. Etiological structure of liver cirrhosis in children. *Detskie infektsii.* 2008; 7: 14–8 (in Russian).
44. Kaganov B.S., Zaynudinov Z.M., Strokova T.V., Got'e S.V., Tsyryul'nikova O.M. Criteria of diagnostics and clinical course of liver cirrhosis in children. *Infektsionnye bolezni.* 2008; 6: 14–21 (in Russian).
45. Guido M., Bortolotti F., Leandro G., Jara P., Hierro L., Larrauri J. et al. Fibrosis in chronic hepatitis C acquired in infancy: is it only a matter of time? *Am. J. Gastroenterol.* 2003; 98: 660–3.
46. Jara P., Resti M., Hierro L., Giacchino R., Barbera C., Zancan L. et al. Chronic hepatitis C virus infection in childhood: Clinical patterns and evolution in 224 white children. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 36: 275–80.

47. Solov'eva I.A., Martynova G.P., Savchenko A.A. Clinical and epidemiological characteristic of chronic hepatitis B and C in adolescents. *Detskie infektsii*. 2012; 4: 19–22 (in Russian).
48. Iorio R., Giannattasio A., Sepe A., Terracciano L.M., Vecchione R., Vegnente A. Chronic hepatitis C in childhood: an 18-year experience. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41: 1431–37.
49. Chuelov S.B., Nisevich N.I., Gasparyan M.O., Molochkova O.V., Chaplygina G.V., Bryusova I.B. et al. Clinic, diagnostic and course of liver cirrhosis in children with HCV-infection. *Detskie infektsii*. 2005; 1: 22–9 (in Russian).
50. Molochkova O.V., Cherednichenko T.V., Gasparyan M.O., Chaplygina G.V. Course of hepatitis C in children. *Detskie infektsii*. 2002; 1: 21–3 (in Russian).
51. Probst A., Dang T., Bochud M., Egger M., Negro F., Bochud P.Y. Role of hepatitis C virus genotype 3 in liver fibrosis progression – a systematic review and meta-analysis. *J. Viral Hepat.* 2011; 18: 745–59.
52. Nikolaeva L.I., Toichuev P.M., Leybman E.A., Grishchkin A.E., Omorbekova Ch. T., Akhmedova D.P. et al. Factors influencing on the course of chronic hepatitis C in children. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2013; 6: 37–44 (in Russian).
53. Bortolotti F., Verucchi G., Cammà C., Cabibbo G., Zancan L., Inolfi G. et al. Long-term course of chronic hepatitis C in children: from viral clearance to end-stage liver disease. *Gastroenterology*. 2008; 134: 1900–7.
54. Horner S.M., Gale M.Jr. Regulation of hepatic innate immunity by hepatitis C virus. *Nature Med.* 2013; 19: 879–88.
55. Bowen D.G., Walker C.M. Adaptive immune responses I acute and chronic hepatitis C virus infection. *Nature*. 2005; 436: 946–52.
56. Senoo H., Yoshikawa K., Morii M., Tmai K., Mezaki Y. Hepatic stellate cell (vitamin A – storing cell) and its relative – past, present and future. *Cell Biol. Int.* 2010; 34: 1247–72.
57. Sato M., Suzuki S., Senoo H. Hepatic stellate cells: unique characteristics in cell biology and phenotype. *Cell Struct. Funct.* 2003; 28: 105–12.
58. Friedman S.L., Arthur M.J. Activation of cultured rat hepatic lipocytes matrix synthesis and stimulation of cell proliferation via induction of platelet-derived growth factor receptors. *J. Clin. Invest.* 1989; 84: 1780–5.
59. Matsuzaki K. Modulation of TGF-beta signaling during progression of chronic liver diseases. *Front. Biosci.: J. Virtual Library*. 2009; 14: 2923–34.
60. Satyanarayana A., Manns M.P., Rudolph K.L. Telomeres and telomerase: a dual role in hepatocarcinogenesis. *Hepatology*. 2004; 40: 276–83.
61. Fujio K., Evarts R.P., Hu Z., Marsden E.R., Thorgeirsson S.S. Expression of stem cell factor and its receptor, c-kit, during liver regeneration from putative stem cells in adult rat. *Lab. Invest.: J. Techn. Meth. Pathol.* 1994; 70: 511–6.
62. Kordes C., Sawitza I., Muller-Marbach A., Ale-Agha N., Keitel V., Klonowski-Stumpe H. et al. CD133+ hepatic stellate cells are progenitor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007; 352: 410–7.
63. Behnke M.K., Reimers M., Fisher R.A. Stem cell and hepatocyte proliferation in hepatitis C cirrhosis and hepatocellular carcinoma: transplant implications. *Ann. Hepatol.* 2013; 13: 45–53.
64. Hörl W.H., Schmidt A. Low hepcidin triggers hepatic iron accumulation in patients with hepatitis C. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2013; PMID: 24286977.
65. Pradere J.P., Kluwe J., de Minicis S., Jiao J.J., Gwak G.Y., Dapito D.H. et al. Hepatic macrophages but not dendritic cells contribute to liver fibrosis by promoting survival of activated hepatic stellate cells in mice. *Hepatology*. 2013; 58: 1461–73.
66. Branda M., Wands J.R. Signal transduction cascades and hepatitis B and C related hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2006; 43: 891–902.
67. Llovet J.M., Bruix J. Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2008; 48: 1312–27.
68. Tsai W.L., Chung R.T. Viral hepatocarcinogenesis. *Oncogene*. 2010; 29: 2309–24.
69. Zekri Ael-R., Nassar A.A., El-Din El-Rouby M.N., Shousha H.I., Barakat A.B., El-Desouky E.D. et al. Disease progression from chronic hepatitis C to cirrhosis and hepatocellular carcinoma is associated with increasing DNA promoter methylation. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2013; 14: 6721–6.
70. Yamashita T., Honda M., Kaneko S. Application of serial analysis of gene expression in cancer research. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2008; 9: 375–82.
71. Honda M., Kaneko S., Kawai H., Shiota Y., Kobayashi K. Differential gene expression between chronic hepatitis B and C hepatic lesion. *Gastroenterology*. 2001; 120: 955–66.
72. Yamashita T., Kaneko S., Hashimoto S., Sato T., Nagai S., Toyoda N. et al. Serial analysis of gene expression in chronic hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 282: 647–54.
73. Anzola M. Hepatocellular carcinoma: role of hepatitis B and hepatitis C viruses proteins in hepatocarcinogenesis. *J. Viral Hepat.* 2004; 11: 383–93.
74. Akuta N., Suzuki F., Kawamura Y., Yatsuji H., Sezaki H., Suzuki Y. et al. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are the important predictor of hepatocarcinogenesis. *Hepatology*. 2007; 46: 1357–64.
75. Fishman S.L., Factor S.H., Balestrieri C., Fan X., Dibisceglie A.M., Desai S.M. et al. Mutations in the hepatitis C virus core gene are associated with advanced liver disease and hepatocellular carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15: 3205–13.
76. Araujo O.C., Barros J.J., do O K.M., Nabuco L.C., Luz C.A., Perez R.M. et al. Genetic variability of hepatitis B and C viruses in Brazilian patients with and without hepatocellular carcinoma. *J. Med. Virol.* 2014; 86: 217–23.
77. Yamanaka T., Kodama T., Doi T. Subcellular localization of HCV core protein regulates its ability for p53 activation and p21 suppression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 294: 528–34.
78. Kwun H.J., Jang K.L. Dual effects of hepatitis C virus Core protein on the transcription of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 gene. *J. Viral Hepat.* 2003; 10: 249–55.
79. Jeong S.W., Jang J.Y., Chung R.T. Hepatitis C virus and hepatocarcinogenesis. *Clin. Mol. Hepatol.* 2012; 18: 347–56.
80. Kwun H.J., Jung E.Y., Ahn J.Y., Lee M.N., Jang K.L. p53-dependent transcriptional repression of p21 (waf1) by hepatitis C virus NS3. *J. Gen. Virol.* 2001; 82: 2235–41.
81. Hassan M., Ghozlan H., Abdel-Kader O. Activation of c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) signaling pathway is essential for the stimulation of hepatitis C virus (HCV) non-structural protein 3 (NS3)-mediated cell growth. *Virology*. 2005; 333: 324–36.
82. Hassan M., Selimovic D., Ghozlan H., Abdel-Kader O. Induction of high-molecular-weight (HMW) tumor necrosis factor(TNF) alpha by hepatitis C virus (HCV) non-structural protein 3 (NS3) in liver cells is AP-1 and NF-kappaB-dependent activation. *Cell. Signal.* 2007; 19: 301–11.
83. De Mitri M.S., Cassini R., Bagaglio S., Morsica G., Andreone P., Marino N. et al. Evolution of hepatitis C virus non-structural 5A gene in the progression of liver disease to hepatocellular carcinoma. *Liver Int.* 2007; 27: 1126–33.
84. Higgs M.R., Lerat H., Pawlotsky J.M. Hepatitis C virus-induced activation of beta-catenin promotes c-Myc expression and a cascade of pro-carcinogenic events. 2013; 32: 4683–93.
85. Benga W.J., Krieger S.E., Dimitrova M., Zeisel M.B., Parnot M., Lupberger J. et al. Apolipoprotein E interacts with hepatitis C virus nonstructural protein 5A and determines assembly of infectious particles. *Hepatology*. 2010; 51: 43–53.
86. Kim K., Kim K.H., Ha E., Park J.Y., Sakamoto N., Cheong J. Hepatitis C virus NS5A protein increases hepatic lipid accumulation via induction of activation and expression of PPARgamma. *FEBS Lett.* 2009; 583: 2720–6.
87. Maqbool M.A., Imache M.R., Higgs M.R., Carmouse S., Pawlotsky J.M., Lerat H. Regulation of hepatitis C virus replication by nuclear translocation of nonstructural 5A protein and transcriptional activation of host genes. *J. Virol.* 2013; 87: 5523–39.
88. Majumder M., Ghosh A.K., Steele R., Ray R., Ray R.B. Hepatitis C virus NS5A physically associates with p53 and regulates p21/waf1 gene expression in a p53-dependent manner. *J. Virol.* 2001; 75: 1401–7.
89. Pavio N., Taylor D.R., Lai M.M. Detection of a novel unglycosylated form of hepatitis C virus E2 envelope protein that is lo-

- cated in the cytosol and interacts with PKR. *J. Virol.* 2002; 76: 1265–72.
90. Erdtmann L., Franck N., Lerat H., Le Seyec J., Gilot D., Cannie I. et al. The hepatitis C virus NS2 protein is an inhibitor of CIDE-B-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 18256–64.
 91. Moriyama M., Kato N., Otsuka M. Interferon-beta is activated by hepatitis C virus NS5B and inhibited by NS4A, NS4B, and NS5A. *Hepat. Int.* 2007; 1: 302–10.
 92. Nahon P., Sutton A., Rufat P., Charnaux N., Mansouri A., Moreau R. et al. A variant in myeloperoxidase promoter hastens the emergence of hepatocellular carcinoma in patients with HCV-related cirrhosis. *J. Hepatol.* 2012; 56: 426–32.
 93. Gharib A.F., Karam R.A., Pasha H.F., Radwan M.I., Elsayy W.H. Polymorphisms of hemochromatosis, and alpha-1 antitrypsin genes in Egyptian HCV patients with and without hepatocellular carcinoma. *Gene.* 2011; 489: 98–102.
 94. Ishizu Y., Katano Y., Honda T., Hayashi K., Ishigami M., Itoh A. et al. Clinical impact of HFE mutations in Japanese patients with chronic hepatitis C. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2012; 27: 1112–6.
 95. Wang Y., Kato N., Hoshida Y., Yoshida H., Taniguchi H., Goto T. et al. Interleukin-1beta gene polymorphisms associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2003; 37: 65–71.
 96. Wei Y., Liu F., Li B., Chen X., Ma Y., Yan L. Polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and hepatocellular carcinoma risk: a huge systematic review and meta-analysis. *Dig. Dis. Sci.* 2011; 56: 2227–36.
 97. Radwan M.I., Pasha H.F., Mohamed R.H., Hussien H.I., El-Khshab M.N. Influence of transforming growth factor-β1 and tumor necrosis factor-α genes polymorphisms on the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients. *Cytokine.* 2012; 60: 271–6.
 98. Yuan J.M., Lu S.C., Van Den Berg D., Govindarajan S., Zhang Z.Q., Mato J.M. et al. Genetic polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase genes and risk of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2007; 46: 749–58.
 99. Dharel N., Kato N., Muroyama R., Moriyama M., Shao R.X., Kawabe T. et al. MDM2 promoter SNP309 is associated with the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 4867–71.
 100. Abu Dayyeh B.K., Yang M., Fuchs B.C., Karl D.L., Yamada S., Sninsky J.J. et al. A functional polymorphism in the epidermal growth factor gene is associated with risk for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2011; 141: 141–9.
 101. Chen K., Song F., Calin G.A., Wei Q., Hao X., Zhang W. Polymorphisms in microRNA targets: a gold mine for molecular epidemiology. *Carcinogenesis.* 2008; 29: 1306–11.
 102. Xu T., Zhu Y., Wei Q.K., Yuan Y., Zhou F., Ge Y.Y. et al. A functional polymorphism in the miR-146a gene is associated with the risk for hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis.* 2008; 29: 2126–31.
 103. Lo P.H., Urabe Y., Kumar V., Tanikawa C., Koike K., Kato N. et al. Identification of a functional variant in the MICA promoter which regulates MICA expression and increases HCV-related hepatocellular carcinoma risk. *PLoS One.* 2013; 11 (8): e61279.
 104. Miki D., Ochi H., Hayes C.N., Abe H., Yoshima T., Aikata H. et al. Variation in the DEPDC5 locus is associated with progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus carriers. *Nature Genet.* 2011; 43: 797–800.
 105. Boccaccio V., Bruno S. Management of HCV patients with cirrhosis with direct acting antivirals. *Liver Int.* 2014; 34 (Suppl. 1): 38–45.
 106. Aghemo A., Degasperis E., Rumi M.G., Galmozzi E., Valenti L., De Francesco R. et al. Cirrhosis and rapid virological response to peginterferon plus ribavirin determine treatment outcome in HCV-1 IL28B rs12979860 CC patients. *Biomed. Res. Int.* 2013; 2013: 580796.
 107. Nikolaeva L.I., Saponov G.V. Hepatitis C virus: therapeutic targets and new drugs. *Voprosy virusologii.* 2012; 5: 10–5 (in Russian).
 108. Saponov G.V., Nikolaeva L.I. New perspectives of personalized therapy of chronic hepatitis C. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni.* 2013; 3: 27–36 (in Russian).
 109. Bourlière M., Wendt A., Fontaine H., Hézode C., Pol S., Bronowicki J.P. How to optimize HCV therapy in genotype 1 patients with cirrhosis. *Liver Int.* 2013; 33 (Suppl. 1): 46–55.

Поступила 10.01.14
Received 10.01.14

Сведения об авторах:

Лейбман Елена Александровна ФГБУ “НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского” Минздрава России, мл. науч. сотр. лаб. генно-инженерных препаратов; ГБОУ ВПО “Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова” Минздрава России, аспирант каф. инфекционных болезней у детей № 1 педиатрического факультета e-mail: dr.leybman@gmail.com; **Сапронов Георгий Витальевич**, ГБОУ ДПО «Российская академия последиplomного образования», доцент каф. инфекционных болезней, e-mail: geo8@inbox.ru; **Юдин Алексей Николаевич**, ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, ст. науч. сотр. лаб. генно-инженерных препаратов, канд. биол. наук, e-mail: alexudin@mail.ru.

© АВДЕЕВА М.Г., ЛЫСЕНКО И.В., 2014

УДК 616.155.194-02:616.36-002-022:578.891]-092

*Авдеева М.Г., Лысенко И.В.***К ВОПРОСУ О ПАТОГЕНЕЗЕ АНЕМИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ HCV-ИНФЕКЦИИ**

ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 350015, Краснодар, ул. Седина, 204

В обзоре литературы рассматриваются проблемы гемопоэза при HCV-инфекции и обсуждаются различные механизмы формирования анемии. На основе анализа современных доказательных данных показано, что анемия при хроническом гепатите С может иметь гипорегенеративный характер и быть связана с миелосупрессивным эффектом вирусной инфекции (прямым или опосредованным через изменение цитокинового профиля), иметь черты так называемой анемии хронических болезней или быть регенеративной как следствие хронической кровопотери, иммунного и неиммунного гемолиза, микроангиопатий, гиперспленизма. В формировании анемии имеют значение развитие дефицита железа и/или витамина В₁₂, воздействие алкоголя, изменения гормонального фона. Показано, что одной из характеристик гемопоэза при HCV-инфекции является присутствие макроцитоз в периферической крови.

Ключевые слова: анемия; гепатит С; HCV-инфекция; гемопоэз; макроцитоз; цианокобаламин; гемолиз; цитокины; противовирусная терапия.

*Avdeeva M.G., Lysenko I.V.***ON THE QUESTION OF PATHOGENESIS OF ANEMIA IN CHRONIC HCV-INFECTION**

In a review of the literature there are considered the problems of hematopoiesis in HCV-infection and discussed the different mechanisms of anemia. On the basis of the analysis of current evidence it was shown that anemia in chronic hepatitis C may have hyporegenerative character and be associated with myelosuppressive effect of viral infection (directly or indirectly through a change in cytokine profile), it has features of the so-called anemia of chronic diseases, or be regenerative as a consequence of chronic blood loss, immune and non-immune hemolysis, microangiopathies, hypersplenism. In the formation of anemia there are important factors: the development of iron deficiency and/or vitamin B₁₂ deficiency, the effects of alcohol, and hormonal perturbations. The mactocytes presence in the peripheral blood is shown to be one of the characteristics of hematopoiesis during HCV-infection.

Key words: anemia; hepatitis C; HCV infection; hematopoiesis; macrocytosis; cyanocobalamin; hemolysis; cytokines; antiviral therapy.

Анемия – один из наиболее частых синдромов в клинической практике. Она регистрируется у каждого четвертого жителя планеты и почти всегда носит вторичный характер [1]. Многофакторная регуляция эритропоэза затрудняет определение причин анемии и методов ее коррекции. Особенно это касается инфекционных заболеваний, патогенез анемии при которых до сих пор не всегда ясен. При хронических вирусных заболеваниях печени анемия наблюдается приблизительно у половины больных [2]. Предполагаемыми причинами анемии у этих пациентов являются миелосупрессивное действие вирусной инфекции и алкоголя, дефицит железа, витамина В₁₂ и фолиевой кислоты, гемодилуция, хроническая кровопотеря и др. [3].

Европейская школа гематологов, 2006 г., разделяет наиболее распространенные виды анемий на 2 группы – гипорегенеративные (с количеством ретикулоцитов менее $50 \cdot 10^9$) и регенеративные (ретикулоцитов более $100 \cdot 10^9$). К гипорегенеративным относятся апластические анемии, чистая красноклеточная аплазия и миелодиспластические синдромы, дефицитные состояния (дефицит железа и витами-

нов), инфильтрация костного мозга (фиброз), анемии хронических болезней (при воспалении и др.), снижение продукции эритропоэтина. Регенеративные анемии связаны с кровотечениями и гемолизом. В эту группу входят наследственные гемолитические анемии, анемии вследствие гиперспленизма и микроангиопатий.

Апластические анемии встречаются редко, но являются наиболее тяжелыми заболеваниями с неблагоприятным прогнозом. Вирусные инфекции способны индуцировать особый вариант апластических анемий, так называемую чистую красноклеточную аплазию (ЧККА). Типичным этиологическим агентом ЧККА является парвовирус В19, отмечена роль цитомегаловируса, ВИЧ, вирусов гепатитов С и В [1].

Миелосупрессивные эффекты при HCV- и HBV-инфекции известны. Так, 2–5% случаев апластической анемии в Европе и 4–10% на Востоке ассоциированы с острыми вирусными гепатитами. Глубокие панцитопении развиваются как в желтушном периоде, так и в ранней реконвалесценции при нормальных биохимических показателях [4, 5]. Однако патогенетические механизмы, приводящие к этим реакциям, неясны. Т-лимфоциты и макрофаги костного мозга играют важную роль в регуляции гемопоэза. Предполагается, что в присутствии, выделяемого ими ФНО α [6–8] и интерферона- γ [4, 9] активируется апоптоз гемопоэтических клеток. Показано,

Для корреспонденции: Авдеева Марина Геннадьевна, зав. каф. инфекционных болезней и фтизиопульмонологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, д-р мед наук, проф., e-mail: avdeevam@mail.ru

что уровни провоспалительных цитокинов ФНО α и ИЛ-6 достоверно повышены даже у пациентов с низкими показателями трансаминаз (менее 2–2,5 нормы) и минимальной/слабовыраженной активностью гепатита по данным биопсий [10, 11]. В подтверждение «иммунной» версии миелосупрессии приведем данные Г.И. Козинца, 2001 г. [3]. Им описан неэффективный гемопоэз у больных хроническим вирусным гепатитом В с цитопениями, определены повышенное содержание иммунокомпетентных клеток в костном мозге и гемолиз клеток-предшественниц.

Другие исследования также констатируют гемопоэтические эффекты цитокинов. Фибробласты, эндотелиальные клетки и активированные Т-лимфоциты синтезируют ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-11, ИЛ-12, ФНО, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, которые относятся к ранним гемопоэтическим ростовым факторам, способствующим дифференцировке полипотентной стволовой клетки [12].

Дефицит железа наблюдается при хронических кровопотерях из эрозий желудочно-кишечного тракта и варикозно расширенных вен пищевода. Однако «дефицитные» анемии, возможно, сопутствуют хронической HCV-инфекции чаще, чем мы себе представляем. Спектр поражений при гепатите С не ограничивается печенью, хорошо известны такие внепеченочные его проявления, как аутоиммунные тиреоидиты, хронический панкреатит и сахарный диабет, которые могут стать причиной дефицита витаминов и микроэлементов.

Изменение гормонального профиля по типу гипотиреоза отмечают у 5–13%, гипертиреоза – у 0,6% пациентов с HCV-инфекцией, антитиреоидные антитела определяют у 15–25% нативных больных и у 28–40% получавших комбинированную противовирусную терапию (ПВТ) интерфероном- α [13, 14]. При лечении пегинтерферонами патология щитовидной железы развивается у 19% больных [15, 16], при 1-м генотипе HCV-инфекции такой риск в 2 раза выше [13, 14]. Риск появления антитиреоидных антител при проведении ПВТ в 7,6 раза выше, чем риск гипотиреоза [17]. Антитела исчезают в течение 6 мес после окончания лечения у 56% пациентов с гипотиреозом и 70% с тиреотоксикозом [18–20], но у части пациентов сохраняются пожизненно. Результаты некоторых клинических исследований свидетельствуют о том, что развитие поражения щитовидной железы при интерферонотерапии в 6 раз увеличивает частоту стойкого вирусологического ответа [21]. Этот эффект объясняется усилением действия интерферона тироксином.

Известно влияние щитовидной железы на кроветворение, тиреопривные анемии объясняют нарушениями утилизации железа, витамина В $_{12}$ и фолиевой кислоты [22]. В экспериментах на крысах доказано влияние тиреоидных гормонов на формирование дефицита цианокобаламина: тиреоидэктомия резко снижает поглощение радиоактивного В $_{12}$, экзогенное

введение гормонов восстанавливает его метаболизм [23]. Дефицит витамина В $_{12}$ у пациентов с гипотиреозом достигает 40–56% и с одинаковой частотой регистрируется у больных тиреоидитом аутоиммунной (43%) и иной (40%) этиологии [24, 25]. Формирования В $_{12}$ -дефицита при аутоиммунных тиреоидитах может определяться несколькими механизмами. Важно, что аутоиммунные нарушения часто не ограничиваются появлением антител к одному из антигенов. Так, при аутоиммунном тиреоидите антитела к париетальным клеткам желудка и/или фактору Кастла обнаруживаются у 3,5% больных [26]. При обследовании пациентов с классической В $_{12}$ -дефицитной анемией – болезнью Аддисона–Бирмера – антитела к обкладочным клеткам желудка обнаружили у 90% больных, к внутреннему фактору Кастла – у 60%, тиреоцитам – у 50%, к гормонам надпочечников – у 20% [26].

Хронический панкреатит и другие сопутствующие заболевания, курируемые назначением ингибиторов протонной помпы, также могут стать причиной дефицита цианокобаламина [27, 28]. Известно, что фактор Кастла продуцируется париетальными клетками желудка и интенсивность его секреции в целом соответствует секреции соляной кислоты [29–31].

У 30–50% пациентов с HCV-инфекцией регистрируется сахарный диабет 2-го типа [32]. Метаболические нарушения, сопутствующие сахарному диабету, способствуют дефициту В $_{12}$, который наблюдается по меньшей мере у 12% пациентов [27, 33].

Таким образом, при хронической HCV-инфекции можно предполагать наличие дефицита витамина В $_{12}$. Однако некоторые исследования, напротив, констатируют повышение сывороточного цианокобаламина у пациентов с хроническим вирусным гепатитом и циррозом печени. Показано, что при вирусном поражении уровень В $_{12}$ в сыворотке выше, чем при лейкозах, малярии, амебиазе и раке печени. У пациентов с печеночной комой цианокобаламин может в 30–40 раз превышать норму, что объяснимо цитолизом и выходом депонированного В $_{12}$ из гепатоцитов с истощением запасов в печени [34]. Корреляция высокого уровня В $_{12}$ со стандартными показателями тяжести поражения печени – уровня билирубина, трансаминаз, щелочной фосфатазы, протромбиновым индексом – получена у пациентов с алкогольной болезнью печени [34]. Интересно, что в исследованиях *in vitro* В $_{12}$ оказывается естественным ингибитором репликации вируса гепатита С. Предполагается, что цианокобаламин тормозит трансляцию HCV-РНК [35]. Есть данные о повышении эффективности противовирусной терапии у пациентов с исходно высоким уровнем В $_{12}$ [35].

Было бы логично рассматривать анемию при HCV-инфекции как анемию хронических болезней (АХБ). Моделью для изучения АХБ являются инфекции, продолжающиеся более 1 мес – туберкулез, бактериальный эндокардит, остеомиелит, хрониче-

ские грибковые заболевания, а также рак и аутоиммунные болезни – ревматоидный артрит, системная красная волчанка, системные васкулиты. Определено, что хроническое воспаление ведет к анемии тремя различными путями: железодефицит, дефицит эритропоэтина и изменение клеток-предшественников. Изначально было отмечено, что в отличие от классических железодефицитных анемий АХБ могут быть нормоцитарными, характеризуются снижением концентрации железа в сыворотке и повышением уровня ферритина, нормальной или слегка сниженной железосвязывающей способностью сыворотки и главное – отсутствием ответа на терапию железом [4]. Открытие центрального регулятора гомеостаза железа гепсидина внесло ясность в патогенез АХБ. Синтез гепсидина происходит в печени и индуцируется воспалительными цитокинами. Гепсидин ингибирует всасывание железа в двенадцатиперстной кишке, высвобождение железа из макрофагов, а также транспорт с помощью ферропортина, что имитирует истинный дефицит железа и снижает его доступность для клеток-предшественниц [1].

При изучении АХБ были определены провоспалительные цитокины, способные подавлять экспрессию генов эритропоэтина и его рецептора [1, 36]. Хроническая почечная недостаточность также сопровождается угнетением синтеза эритропоэтина, но это происходит только при снижении клиренса креатинина менее 30 мл/мин. При хронической HCV-инфекции возможно поражение почек вследствие криоглобулинемии или при развитии гепаторенального синдрома. Однако циррозы характеризуются повышением уровня эритропоэтина и снижением терапевтического эффекта экзогенного эритропоэтина [2]. По мнению А.Г. Рахмановой [2], анемия при циррозах полностью не объяснима депонированием крови в селезенке, так как портальная декомпрессия или спленэктомия не оказывают существенного влияния на уровень эритроцитов; повышение захвата меченых эритроцитов селезенкой наблюдается не более чем у 20% больных. Но анемия при вирусном циррозе печени не является АХБ, что подтверждают исследования костно-мозгового пунктата, обнаруживающие увеличение клеточности и числа ретикулоцитов [2]. В.Г. Радченко [37] также указывает, что циррозы сопровождаются анемией регенеративного типа.

Таким образом, возникновение гипорегенеративных анемий при хронической HCV-инфекции возможно, но спорно. Рассмотрим, существуют ли патогенетические предпосылки развития регенеративных анемий при HCV-инфекции.

Гемолиз значим в формировании анемии при малярии, инфекции клостридиями и легочным микоплазмозом – иммунный гемолиз, *E. coli* 0157 – гемолиз вследствие микроангиопатии [4, 38, 39]. Крайняя форма – фагоцитоз форменных элементов крови – имеет значение в патогенезе инфекции вирусом Эпштейна–Барр, гистоплазмоза, криптококкоза,

лейшманиоза, бабезиоза, летальных форм ТОРС, птичьего и H1N1-гриппа, парагриппа, респираторно-синцитиальной инфекции, а также при опухолях и аутоиммунных болезнях [38]. Вторичный гемофагоцитарный синдром, как и наследственный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, характеризуется активацией тканевых макрофагов и прогрессирующей цитопенией по крайней мере двух ростков кроветворения [38, 39]. Молекулярные механизмы первичной и вторичной форм заболевания схожи: избыточная продукция цитокинов и нарушение регуляции Т-лимфоцитов. Макрофаги стимулируются ФНО α , интерфероном- γ и М-CSF. Наиболее интенсивно фагоцитоз происходит в печени, селезенке и лимфатических узлах, что соответствует их гиперплазии. ФНО α ингибирует липопротеиназу, типично повышение триглицеридов сыворотки более 3 ммоль/л. Повышен сывороточный ферритин. Активация плазминогена стимулированными макрофагами определяет развитие ДВС [4, 38, 39].

«Мягкие» варианты гемолиза являются неотъемлемым компонентом любого инфекционного процесса. В условиях воспаления активные формы кислорода активируют перекисное окисление липидов мембран эритроцитов, при этом изменяется уровень малонового диальдегида и восстановленного глутатиона, а окисление оксигемоглобина в метгемоглобин генерирует образование супероксидрадикала при активации супероксиддисмутазы [3]. Любые нарушения липидного обмена в сыворотке и на клеточных мембранах изменяют активный транспорт ионов, что способствует активации эритродиереза. Гемолиз индуцируют не только специфические «эритроксинсы» микроорганизмов, но и любые продукты распада клеток, в частности их лизосом, продукты перекисного окисления липидов, фосфолипазы и жирные кислоты, которые составляют липидный пул так называемых среднемолекулярных пептидов (индикаторов воспаления) и действуют в качестве липофильных детергентов [40, 41]. Гемолиз могут индуцировать воспалительные медиаторы. Так, простагландин E2 активирует Ca $^{2+}$ -проницаемые катионные и Ca $^{2+}$ -чувствительные K $^{+}$ -каналы, в результате чего происходит гиперполяризация мембраны эритроцита. Это приводит к смещению фосфатидилсерина из внутренней в наружную клеточную оболочку, где он выступает в роли рецептора, привлекающего макрофаг [42]. Известно, что и гипероксия, и гипоксия ведут к схожим изменениям, в частности страдает антиокислительная защита (активность супероксиддисмутазы), таким образом механизмы эритродиереза оказываются общими [3]. Есть данные, что в присутствии ФНО α укорачивается продолжительность жизни эритроцитов [43].

Также изучено повреждающее действие стрессовых гормонов коры надпочечников: для симпатико-адреналовых реакций характерны белковый катаболизм ферментных систем дыхания и гликолиза, ингибирование активности железосодержащих

ферментов и нарушение молекулы гемоглобина [3]. Стресс как адаптивная реакция сопровождается гемолизом. К примеру, андрогены стимулируют эритропоэз, а эстрогены тормозят его [12].

Гемолиз физиологически оправдан, так как направлен не только на стимуляцию эритропоэза. Макрофаги принимают активное участие в захвате и элиминации разрушенных эритроцитов, их активность повышается, следовательно, стимулируются и другие звенья иммунитета [44]. «Усиливающее» действие эритродиереза на клетки макрофагально-гранулоцитарного звена и антителогенез продемонстрировано в экспериментах Е.Г. Кирдея, В.И. Нечаева (1982) и наших клинических исследованиях при лептоспирозе [3, 44, 45]. Кровопускание (когда-то лечебная процедура при инфекциях) также имеет патогенетическое значение: после повторных кровопусканий продолжительность жизни эритроцитов сокращается, продукты гемолиза стимулируют иммунный ответ [3, 40]. Аналогично объясняется регенерирующая и «стимулирующая» роль гемотрансфузий: количество эритроцитов у реципиентов первично снижается за счет гемолиза чужеродных и собственных красных кровяных телец [3, 40], зато появляются эритропоэтины. Известно, что полипептиды эритроцитов с молекулярной массой менее 10 кД обладают мощной эритропоэтической активностью [12]. Эритроциты, которые появляются в периферическом русле в результате так называемого стрессового эритропоэза, имеют морфологию макроцитов, так как для быстрого пополнения периферического пула они покидают красный костный мозг, минуя несколько этапов деления [40].

При HCV-инфекции криоглобулины могут усугублять анемию вследствие формирования микроангиопатии и способности связывать компоненты комплемента. Феномен криоглобулинемии сопровождается разрушением эритроцитов, покрытых с3b- и с3d-компонентами комплемента при прохождении через с3-рецепторы макрофагов в печени [4]. При HCV-инфекции гемолиз также может иметь иммунный характер [40, 46–48].

Анемия, развивающаяся в процессе противовирусной терапии HCV-инфекции, особенно актуальна [49]. Рибавирин вызывает гемолитическую дозозависимую анемию. Предполагается, что рибавирин проникает в эритроциты посредством нуклеозидного «транспортера» и фосфорилируется. Эритроциты не имеют фосфатаз для гидролиза фосфатов рибавирина и подвергаются разрушению. У пациентов с относительным дефицитом аденозинтрифосфата осмотическая резистентность эритроцитов нарушается чаще [50]. Установлен генетический маркер рибавирининдуцированной анемии [50]. Назначение эритропоэтина с целью терапии этих анемий спорно [4, 51], так как рибавирин может индуцировать анемию альтернативным путем – через подавление рецепторов эритропоэтина [52]. В настоящее время разрабатываются аналоги рибавирина, не подвер-

гающиеся фосфорилированию и не вызывающие гемолиз – например левовирин, или превращающиеся в активную форму в печени и не накапливающиеся в эритроцитах – вирамизин [52]. Уже показано, что при назначении вирамизина анемия развивается в 10 раз реже, чем при лечении рибавирином [52]. Интерфероны оказывают супрессивное действие на костно-мозговое кроветворение, есть сведения, что эти эффекты больше присущи пегилированным формам [4, 49].

При наблюдении за 50 пациентами с хроническим вирусным гепатитом С, получавшими комбинированную противовирусную терапию (ПВТ) пегинтерферонами и рибавирином на базе Краснодарского краевого гепатологического центра в 2008–2010 гг., мы отметили присутствие макроцитарных эритроцитов у 22% нативных больных и дополнительно у 43% в процессе ПВТ, а также анемии у 2% нативных пациентов и дополнительно у 8% в процессе ПВТ. Анемия в процессе ПВТ сочеталась с дисфункцией щитовидной железы ($Q = 0,8$), а макроцитоз – с сопутствующей патологией поджелудочной железы ($Q = 0,7$) и в меньшей мере щитовидной железы ($Q = 0,4$), гипертриглицеридемией ($Q = 0,8$), гиперхолестеринемией ($Q = 0,56$).

По данным литературы, распространенность макроцитоза в популяции составляет 1,7–3,6%, при этом у 60% пациентов нет анемии и каких-либо патологических изменений [53–55]. Эритроциты у новорожденных и грудных детей нередко больше, чем у взрослых [33, 56]. Иногда макроциты можно обнаружить у близких родственников, что указывает на наследственный характер изменений [33].

Описаны два варианта макроцитоза. Первый связан с мегалобластной морфологией клеток костного мозга, возникающей при дефиците фолиевой кислоты или витамина B_{12} . Дефицит фолиевой кислоты и витамина B_{12} приводит к нарушению репликации ДНК, особенно в клетках с высоким жизненным циклом. Мегалобласты имеют овальную форму, характеризуются низкой резистентностью и короткой продолжительностью жизни. Некоторые лекарственные препараты – ингибиторы синтеза ДНК – также приводят к мегалобластозу.

Другой вариант макроцитоза – немегалобластный, т. е. не связанный с дефицитом витамина B_{12} и фолиевой кислоты, может ассоциироваться с алкоголизмом, миелодисплазиями, гипотиреозом, заболеваниями печени, гемолизом, ХОБЛ, спленэктомией, анемией беременных, злокачественными опухолями, лимфопролиферативными заболеваниями [30, 57, 58] или быть следствием стрессового эритропоэза [40]. Стрессовые макроциты имеют обычную для эритроцитов круглую форму, их резистентность также снижена [3].

Ложный макроцитоз возникает в присутствии холодových агглютининов, при гипергликемии, высоким лейкоцитозе и отложении липидов на мембранах эритроцитов. Вероятно, что макроцитоз при

перечисленных состояниях связан с реализацией эритроцитами своей до сих пор малоизученной транспортной функции [59]. Морфология «перегруженных холестерином и лецитином» макроцитов описана при механической желтухе. Они имеют увеличенную площадь поверхности и при этом тонкие, т. е. имеют нормальный объем, мишеневидные клетки (кодоциты). Периферия таких клеток окрашена больше, на фоне светлой центральной части небольшой более темный участок [3]. Н. Vunn [30] также указывает, что макроцитоз, связанный с гипотиреозом, определяется отложением липидов на мембранах эритроцитов.

В литературе есть сведения о макроцитозе как о побочном эффекте ПВТ. Постмаркетинговое исследование пациентов, принимающих рибавирин, включает информацию о наличии побочных эффектов у 12 574 человек, из них 9 (0,07%) сообщают о макроцитозе. Макроцитоз развился у всех больных в первые 24 нед ПВТ. Мужчин – 80%, женщин – 20%. Возраст 40–49 лет. Сопутствующие заболевания/состояния: патология щитовидной железы, депрессия. Препараты, которые принимались одновременно: трамадол, ибупрофен, долобид, нексиум [60]. Однако данное сообщение – лишь констатация факта, причины макроцитоза не устанавливались.

Не определялись причины макроцитоза и при назначении ПЭГИФН- α_{2a} . Сообщается о наличии побочных эффектов у 981 пациента, в том числе макроцитоза у 5 (0,05%), из них мужчин – 80%, женщин 20%, возраст 40–49 лет. Сроки появления макроцитоза: 1 мес – 25%, 2–6 мес – 50%, 6–12 мес – 25%. Все пациенты с макроцитозом были ВИЧ-инфицированными. В данной ситуации высока вероятность мегалобластного макроцитоза, так как дефицит B_{12} типичен для ВИЧ-инфицированных, на стадии СПИДа он наблюдается у каждого 3-го больного [61, 62]. Совместно принимались ребетол, атакс, субутрекс, церебрекс [63].

В доступной литературе нами обнаружены единичные указания на причину макроцитоза у пациента с хроническим вирусным гепатитом С. Сообщается о развитии тяжелой, жизнеугрожающей анемии на 2-м месяце ПВТ. Анемия была мегалобластной и совпала с появлением антител к внутреннему фактору Кастла [64]. Известно, что интерферонотерапия может способствовать проявлению скрытых аутоиммунных нарушений. В данном случае макроцитоз выступил их своеобразным маркером.

Интересно, что макроцитоз определяется при хронической HCV-инфекции чаще, чем при другой вирусной патологии печени. Нами проанализированы гемограммы 35 пациентов с острым гепатитом А (ОГА), 89 – с острым гепатитом С (ОГС) и 58 – с хроническим гепатитом В (ОГВ) в период разгара и ранней реконвалесценции. Макроцитоз без снижения уровня гемоглобина и количества эритроцитов регистрировался у отдельных больных: 7% больных ОГВ ($Q = 0,7$), 7% больных ОГС ($Q = 0,7$), 2,8%

больных ОГА ($Q = 0,8$). Патологические изменения в эритроцитарном звене гемограммы усугубляются при наличии сопутствующей патологии щитовидной железы при ОГС и патологии поджелудочной железы при ОГА. Развитие макроанизоцитоза наблюдалось при переходе гепатита С в хроническую форму [49].

Таким образом, представленный обзор литературы свидетельствует, что патогенез анемии при хронической HCV-инфекции многофакторен и окончательно неясен. Анемия у данных больных может иметь гипорегенеративный характер и быть связана с гематодиспластическим эффектом вирусной инфекции (прямым или опосредованным через изменение цитокинового профиля), алкоголя, гормонального фона, дефицитом железа или витамина B_{12} , иметь черты так называемой анемии хронических болезней или быть регенеративной как следствие хронической кровопотери, иммунного и неиммунного гемолиза, микроангиопатий, гиперспленизма.

Одной из характеристик гемопоэза при HCV-инфекции является присутствие макроцитов в периферической крови. Определение причин макроцитоза будет способствовать установлению патогенеза анемии при HCV-инфекции и рационализации методов коррекции гематологических нарушений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Полуэктова О.Ю., Трокарев Ю.Н., Кузнецов В.И., Стуров Н.В. Важнейшие анемии в общеврачебной практике. Гипорегенеративные анемии. Земский врач. 2011; 4 (8): 9–13.
2. Рахманова А.Г., ред. Хронические вирусные гепатиты и цирроз печени. СПб.: СпецЛит; 2006.
3. Козинев Г.И., Высоцкий В.В., Погорелов В.М., Еровиченко А.А., Малов В.А. Кровь и инфекция. М: Триада-фарм; 2001.
4. Милованова С.Ю., Козловская Л.В., Лопаткина Т.Н. Анемии при острых и хронических заболеваниях печени. Клиническая гепатология. 2006; 2 (2): 16–23.
5. Михайлова Е.А., Ядрихинская В.Н., Савченко В.Г. Апластические анемии и вирусные гепатиты (постгепатитные апластические анемии). Терапевтический архив. 1999; 7: 64–9.
6. Means R.T. Recent developments in the anemia of chronic disease. Curr. Hematol. Rep. 2003; 2: 116–21.
7. Nemeth E., Rivera S., Gabayan V. et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. J. Clin. Invest. 2004; 113: 1271–6.
8. Weiss G. Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease. Blood Rev. 2002; 16: 87–96.
9. Walter S., Thein H., Amin J. et al. Trends in mortality after diagnosis of hepatitis B or C infection: 1992–2006. J. Hepatol. 2009; 54 (5): 879–86.
10. Мамаев С.Н., Рамазанов Р.Ш. Про- и противовоспалительные цитокины у больных хроническим вирусным гепатитом С. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2007; 12(1), приложение 29: 34.
11. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Оценка иммунной регуляции у больных хроническим гепатитом С. Инфекционные болезни. 2009; 7 (3): 8–11.
12. Коротьюк Г.Ф., Покровский В.М., ред. Физиология человека. М.: Медицина; 2003.
13. Koh L.K., Greenspan F.S., Yeo P.P. Interferon-alpha induced thyroid dysfunction: three clinical presentations and a review of the literature. Thyroid. 1997; 7: 891–6.
14. Mandac J.C., Chaudhry S., Sherman K.E. et al. The clinical and physiological spectrum of interferon-alpha induced thyroiditis: Toward a new classification. Hepatology. 2006; 43: 661–72.
15. Tran H.A., Attia J., Jones T.L. et al. Pegylated interferon-alpha-2-beta in combination with ribavirin does not aggravate thyroid dys-

- function in comparison to regular interferon-alpha-2-beta in a hepatitis C population: meta-analysis. *J. Hepatol. Gastroenterol.* 2007; 22: 472–6.
16. Wiesinger H., Amar J., Chaun H. R. et al. A Ramji prevalence and risk factors of thyroid abnormalities in patients treated for hepatitis C virus. *CDDW*; 2009.
 17. De Oliveira Andrade L., Mercês A., D'Almeida A. et al. Thyroid disorders in patients with chronic hepatitis C using interferon-alpha and ribavirin therapy. *Brazilian J. Infect. Dis.* 2011; 15 (4): 377–81.
 18. Baudin E., Marcellin P., Pouteau M. et al. Reversibility of thyroid dysfunction induced by recombinant alpha interferon in chronic hepatitis C. *Clin. Endocrinol.* 1993; 39: 657–61.
 19. Marcellin P., Pouteau M., Renard P. et al. Sustained hypothyroidism induced by recombinant alpha interferon in patients with chronic hepatitis C. *Gut.* 1992; 33: 855–6.
 20. Preziati D., La Rosa L., Covini G. et al. Autoimmunity and thyroid function in patients with chronic active hepatitis treated with recombinant interferon alpha-2a. *Eur. J. Endocrinol.* 1995; 132: 587–93.
 21. Tran H.A., Jones T.L., Ianna E.A., Gibson R.A., Reeves G.E.M. The reduced predictive value of interleukin 28b gene polymorphisms in a cohort of patients with thyroiditis developed during antiviral therapy for chronic hepatitis C: a preliminary study. *Hepat. Mon.* 2012; 12 (8): e6036. DOI: 10.5812/hepatmon.6036 (http://hepatmon.com/?page=article&article_id=6036)
 22. Lippi G., Montagnana M., Targher G., et al. Prevalence of folic acid and vitamin B12 deficiencies in patients with thyroid disorders. *Am. J. Med. Sci.* 2008; 336 (1): 50–2.
 23. Okuda K., Chow B.F. The thyroid and absorption of vitamin B12 in rats. *Endocrinology.* 1961; 68: 607–15.
 24. Jabbar A., Yawar A., Wasseem S. et al. Vitamin B12 deficiency common in primary hypothyroidism. *J. Pak. Med. Assoc.* 2008; 58 (5): 258–61.
 25. Ness-Abramof R. et al. Prevalence and evaluation of B12 deficiency in patients with autoimmune thyroid disease. *Am. J. Med. Sci.* 2006; 332 (3): 119–22.
 26. Breedveld F.C., Bieger R., van Wermeskerken R.K. The clinical significance of macrocytosis. *Acta Med. Scand.*, 1981; 209: 319–22.
 27. Marcuard S.P., Albernaz L., Khazanie P.G. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B12). *Ann. Intern. Med.* 1994; 120 (3): 211–5.
 28. Valuck R.J., Ruscin J.M. A case-control study on adverse effects: H2 blocker or proton pump inhibitor use and risk of vitamin B12 deficiency in older adults. *J. Clin. Epidemiol.* 2004; 57 (4): 422–8.
 29. Babier B.V., Bunn H.F. Мегалобластные анемии. В кн.: Внутренние болезни. М.: Медицина; 1996; кн. 7: 590–603.
 30. Банн Х.Ф. Анемия при хронических заболеваниях. В кн.: Браунвальд Е. и др., ред. Внутренние болезни. М.: Медицина; 1993; кн. 2: 87–96.
 31. Банн Х.Ф. Патофизиология анемий. В кн.: Браунвальд Е. и др., ред. Внутренние болезни. М.: Медицина; 1996; кн. 7: 572–9.
 32. Назаренко ГИ, Кишкун АА. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М.: Медицина; 2006; 18–21.
 33. Hoffbrand A.V., Moss P.A.H., Pettit J.E., eds. *Essential haematology*. 5th ed. Blackwell Publishing; 2006.
 34. Areekul S., Panatampon P., Doungharn J. Vitamin B12 and vitamin B12 binding proteins in liver diseases. *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth.* 1977; 8 (3): 322–8.
 35. Rosenberg P., Hagen K. Serum B12 levels predict response to treatment with interferon and ribavirin in patients with chronic HCV infection. *J. Viral Hepat.* 2011; 18 (2): 129–34.
 36. Авдеева М.Г., Лебедев В.В., Шубич М.Г. Инфекционный процесс и системный воспалительный ответ / Под ред. М.Т. Абидова. Нальчик; 2010.
 37. Радченко В.Г., Шабров А.В., Зиновьева Е.Н. Основы клинической гепатологии. Заболевания печени и билиарной системы. СПб.: Издательство «Диалект»; М.: Издательство «БИНОМ»; 2005.
 38. Масчан Н.М., Новичкова Г.Н. Гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз. Вопросы педиатрии. 2009; 8 (3): 66–77.
 39. Анохин В.А., Феткулина Г.Р. Акчурина Л.Б. Гемофагоцитарный синдром и герпесвирусная инфекция. *Журнал инфектологии.* 2012; 4 (1): 81–4.
 40. Козинец Г.И., Макаров В.А., ред. Исследование системы крови в клинической практике. М.: Триада-Х; 1997.
 41. Авдеева М.Г., Лебедев В.В., Шубич М.Г. Молекулярные механизмы развития инфекционного процесса. Клиническая лабораторная диагностика. 2007; 4: 15–22.
 42. Lang F. Mechanisms and significance of eryptosis. *Antioxid. Redox Signal.* 2006; 8: 1183–92.
 43. Moldawer L.L. Cachectin/tumor necrosis factor-alpha alters red blood cell kinetics and induces anemia in vivo. *FASEB J.* 1989; 3: 1637–43.
 44. Шубич М.Г., Авдеева М.Г., Мойсова Д.И. Взаимосвязь цитохимической активности лейкоцитов с феноменом аутозеткообразования и его клиническое значение у больных лептоспирозом. Клиническая лабораторная диагностика. 1997; 1: 13–4.
 45. Мельник Г.В., Авдеева М.Г., Пискунов О.В. Значение миоглобина в патогенезе лептоспироза. *Терапевтический архив.* 1997; 69 (4): 69–72.
 46. Игнатова Т.М. Современные возможности изменения прогноза криоглобулинемического васкулита и В-клеточной лимфомы, ассоциированных с HCV-инфекцией. *Клиническая гепатология.* 2011; 7: 163–4.
 47. Семенкова Е.Н., Новиков П.И., Смитиенко И.О. Вирус-ассоциированные васкулиты. *Гепатологический форум.* 2010; 3: 18–20.
 48. Вирусные гепатиты: стратегия и тактика терапии, организация медицинской помощи: Пособие для врачей / Авдеева М.Г., Горodin В.Н., Редько Е.Н., Стриханов С.Н., Моренец Т.М. Краснодар: ООО «Качество»; 2009.
 49. Авдеева М.Г., Блажная Л.П., Ганжа А.А., Дубинина В.А., Кулбужева М.И., Лысенко И.В., Манаева Д.А., Чернявская О.В. Изменения эритроцитарного звена гемограммы при острых вирусных гепатитах различной этиологии. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2012; 6: 11–6.
 50. Tanaka H., Miyano M., Ueda H., Fukui K., Ichinose M. Changes in serum and red blood cell membrane lipids in patients treated with interferon ribavirin for chronic hepatitis C. *Clin. Exp. Med.* 2005; 5 (4): 190–5.
 51. Богомолов П.О., Буеверов А.О., Кузьмина О.С., Трофимова М.Н. Эффективность эритропоэтина для коррекции анемии на фоне комбинированной противовирусной терапии больных хроническим гепатитом С. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.* 2007; 17 (1), приложение 29: 21.
 52. McHutchison J.G., Manns M.P., Longo D.L. Definition and management of anemia in patients infected with hepatitis C virus. *Liver Int.* 2006; 26: 389–98.
 53. Colon-Otero G., Menke D., Hook C.C. A practical approach to the differential diagnosis and evaluation of the adult patient with macrocytic anemia. *Med. Clin. North Am.* 1992; 76: 581–97.
 54. Davidson R.J., Hamilton P.J. High mean red cell volume: its incidence and significance in routine haematology. *J. Clin. Pathol.* 1978; 31: 493–8.
 55. Lawrence A.C., Bevington J.M., Young M. Storage of blood and the mean corpuscular volume. *J. Clin. Pathol.* 1975; 28: 345–9.
 56. Nathan D.G., Orkin S.H., Look A.T. et al. Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood. Philadelphia: Saunders; 2003.
 57. Kaferle J., Heryl C., Strzoda C.E. et al. Evaluation of macrocytosis. *Am. Fam. Physician.* 2009; 79 (3): 203–8.
 58. Savage D.G., Ogundipe A., Allen R.H. et al. Etiology and diagnostic evaluation of macrocytosis. *Am. J. Med. Sci.* 2000; 319 (6): 343–52.
 59. Гареев Р.А. Некоторые итоги исследований адсорбционно-транспортной функции эритроцитов. Available at: <http://www.econf.rae.ru/pdf/2010/08/gareev.pdf>
 60. Could rybavirin cause macrocytosis, and to whom? Available at: <http://www.ehealthme.com/ribavirin>
 61. Could pegasys cause macrocytosis, and to whom? Available at: <http://www.ehealthme.com/ds/pegasys/macrocytosis.phtml>
 62. Harriman G.R., Smith P.D., Horne M.K. et al. Vitamin B12 malabsorption in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Arch. Intern. Med.* 1989; 149: 2039–41.
 63. Remacha A.F., Cadafalch J. Cobalamin deficiency in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Semin. Hematol.* 1999; 36: 75.
 64. Borgia G., Reynanud L., Gentile I. et al. Pernicious anemia during INF-alpha treatment for chronic hepatitis C. *J. Interferon Cytokine Res.* 2003; 23 (1): 11–2.

REFERENCES

1. Poluektova O.Yu., Trokarev Yu.N., Kuznetsov V.I., Sturov N.V. The most important anemia in general practice. *Hypoplastic anemia. Zemskiy vrach.* 2011; 4 (8): 9–13 (in Russian).
2. Rakhmanova A.G. Chronic viral hepatitis and hepatic cirrhosis. *St. Petersburg: SpetsLit; 2006 (in Russian).*

3. Kozinets G.I., Vysotskiy V.V., Pogorelov V.M., Eroviichenko A.A., Malov V.A. Blood and infection disease. Moscow: Triadafarm; 2001 (in Russian).
4. Milovanova S.Yu., Kozlovskaya L.V., Lopatkina T.N. Anemia of acute and chronic liver diseases. *Klinicheskaya gepatologiya*. 2006; 2 (2): 16–23 (in Russian).
5. Mikhaylova E.A., Yadrinkinskaya V.N., Savchenko V.G. Aplastic anemia and viral hepatitis (post-hepatitis aplastic anemia). *Terapevticheskiy arkhiv*. 1999; 7: 64–9 (in Russian).
6. Means R.T. Recent developments in the anemia of chronic disease. *Curr. Hematol. Rep.* 2003; 2: 116–21.
7. Nemeth E., Rivera S., Gabayan V. et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin. Invest.* 2004; 113: 1271–6.
8. Weiss G. Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease. *Blood Rev.* 2002; 16: 87–96.
9. Walter S., Thein H., Amin J. et al. Trends in mortality after diagnosis of hepatitis B or C infection: 1992–2006. *J. Hepatol.* 2009; 54 (5): 879–86.
10. Mamaeva S.N., Ramazanov Sh.R. Pro- and antiinflammatory cytokines in patients with HCV infection. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2007; 12 (1), pril. 29: 34 (in Russian).
11. Nagoev B.S., Ponezhzheva Zh.B. An evaluation of immune regulation in patients with chronic HCV infection. *Infektsionnye bolezni*. 2009; 7 (3): 8–11 (in Russian).
12. Korot'ko G.F., Pokrovskiy V.M. Human physiology. Moscow: Meditsina; 2003 (in Russian).
13. Koh L.K., Greenspan F.S., Yeo P.P. Interferon-alpha induced thyroid dysfunction: three clinical presentations and a review of the literature. *Thyroid*. 1997; 7: 891–6.
14. Mandac J.C., Chaudhry S., Sherman K.E. et al. The clinical and physiological spectrum of interferon-alpha induced thyroiditis: Toward a new classification. *Hepatology*. 2006; 43: 661–72.
15. Tran H.A., Attia J., Jones T.L. et al. Pegylated interferon-alpha-2-beta in combination with ribavirin does not aggravate thyroid dysfunction in comparison to regular interferon-alpha-2-beta in a hepatitis C population: meta-analysis. *J. Hepatol. Gastroenterol.* 2007; 22: 472–6.
16. Wiesinger H., Amar J., Chaun H. R. et al. A Ramji prevalence and risk factors of thyroid abnormalities in patients treated for hepatitis C virus. *CDDW*; 2009.
17. De Oliveira Andrade L., Mercês A., D'Almeida A. et al. Thyroid disorders in patients with chronic hepatitis C using interferon-alpha and ribavirin therapy. *Brazilian J. Infect. Dis.* 2011; 15 (4): 377–81.
18. Baudin E., Marcellin P., Pouteau M. et al. Reversibility of thyroid dysfunction induced by recombinant alpha interferon in chronic hepatitis C. *Clin. Endocrinol.* 1993; 39: 657–61.
19. Marcellin P., Pouteau M., Renard P. et al. Sustained hypothyroidism induced by recombinant alpha interferon in patients with chronic hepatitis C. *Gut*. 1992; 33: 855–6.
20. Preziati D., La Rosa L., Covini G. et al. Autoimmunity and thyroid function in patients with chronic active hepatitis treated with recombinant interferon alpha-2a. *Eur. J. Endocrinol.* 1995; 132: 587–93.
21. Tran H.A., Jones T.L., Ianna E.A., Gibson R.A., Reeves G.E.M. The reduced predictive value of interleukin 28b gene polymorphisms in a cohort of patients with thyroiditis developed during antiviral therapy for chronic hepatitis C: a preliminary study. *Hepat. Mon.* 2012; 12 (8): e6036. DOI: 10.5812/hepatmon.6036 (http://hepatmon.com/?page=article&article_id=6036)
22. Lippi G., Montagnana M., Targher G., et al. Prevalence of folic acid and vitamin B12 deficiencies in patients with thyroid disorders. *Am. J. Med. Sci.* 2008; 336 (1): 50–2.
23. Okuda K., Chow B.F. The thyroid and absorption of vitamin B12 in rats. *Endocrinology*. 1961; 68: 607–15.
24. Jabbar A., Yawar A., Wasseem S. et al. Vitamin B12 deficiency common in primary hypothyroidism. *J. Pak. Med. Assoc.* 2008; 58 (5): 258–61.
25. Ness-Abramof R. et al. Prevalence and evaluation of B12 deficiency in patients with autoimmune thyroid disease. *Am. J. Med. Sci.* 2006; 332 (3): 119–22.
26. Breedveld F.C., Bieger R., van Wermeskerken R.K. The clinical significance of macrocytosis. *Acta Med. Scand.*, 1981; 209: 319–22.
27. Marcuard S.P., Albernaz L., Khazanie P.G. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B12). *Ann. Intern. Med.* 1994; 120 (3): 211–5.
28. Valuck R.J., Ruscin J.M. A case-control study on adverse effects: H2 blocker or proton pump inhibitor use and risk of vitamin B12 deficiency in older adults. *J. Clin. Epidemiol.* 2004; 57 (4): 422–8.
29. Babier B.B., Bunn H.F. Megaloblastic anemia. In: Principles of internal medicine. Moscow: Meditsina; 1996; vol. 7: 590–603 (in Russian).
30. Bunn H.F. Anemia. In: Principles of internal medicine. Moscow: Meditsina; 1993; 87–96 (in Russian).
31. Bunn H.F. Pathologic physiology of anemia. In: Principles of internal medicine. Moscow: Meditsina; 1996; vol. 7: 572–9 (in Russian).
32. Nazarenko G.I., Kishkun A.A. An evaluation of laboratory reports in clinical practice. Moscow: Meditsina; 2006; 18–21 (in Russian).
33. Hoffbrand A.V., Pettit J.E. Clinical hematology: Sandoz atlas. London: Glower; 1988.
34. Areekul S., Panatampon P., Doungbarn J. Vitamin B12 and vitamin B12 binding proteins in liver diseases. *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth.* 1977; 8 (3): 322–8.
35. Rosenberg P., Hagen K. Serum B12 levels predict response to treatment with interferon and ribavirin in patients with chronic HCV infection. *J. Viral Hepat.* 2011; 18 (2): 129–34.
36. Avdeeva M.G., Lebedev V.V., Shubich M.G. Infectious process and the systemic inflammatory response / Ed. M.T. Abidov. Nal'chik; 2010 (in Russian).
37. Radchenko V.G., Shabrov A.V., Zinov'eva E.N. Basic clinical hepatology. Diseases of liver and biliary system. St. Petersburg: Dialekt; 2005 (in Russian).
38. Maschan N.M., Novichkova G.N. Hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Voprosy pediatrii*. 2009; 8 (3): 66–77 (in Russian).
39. Anokhin V.A., Fetkulina G.R., Akchurina L.B. Hemophagocytic syndrome and herpes virus infection. *Zhurnal infektologii*. 2012; 4 (1): 81–4 (in Russian).
40. Kozinets G.I., Makarov V.A. Blood tests in clinical practice. Moscow: Triada-Kh; 1997 (in Russian).
41. Avdeeva M.G., Lebedev V.V., Shubich M.G. Molecular mechanisms of infectious process. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2007; 4: 15–22 (in Russian).
42. Lang F. Mechanisms and significance of eryptosis. *Antioxid. Redox. Signal.* 2006; 8: 1183–92.
43. Moldawer L.L. Cachectin/tumor necrosis factor-alpha alters red blood cell kinetics and induces anemia in vivo. *FASEB J.* 1989; 3: 1637–43.
44. Shubich M.G., Avdeeva M.G., Moisoa D.L. Relationship between the cytochemical activity of leukocytes autorosette formation phenomenon and its clinical significance in patients with leptospirosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 1997; 1: 13–4 (in Russian).
45. Mel'nik G.V., Avdeeva M.G., Piskunov O.V. Significance of myoglobin in the pathogenesis of leptospirosis. *Terapevticheskiy arkhiv*. 1997; 69 (4): 69–72 (in Russian).
46. Ignatova T.M. Modern opportunities in treatment of cryoglobulin vasculitis and B-cell lymphoma associated with HCV infection. *Klinicheskaya gepatologiya*. 2011; 7: 163–4 (in Russian).
47. Semenkova E.N., Novikov P.I., Smitienko I.O. Virus-associated vasculitis. *Gepatologicheskii forum*. 2010; 3: 18–20 (in Russian).
48. Viral hepatitis: the strategy and tactics of therapy, the organization of medical care: A guide for doctors / Avdeeva M.G., Gorodin V.N., Red'ko E.N., Strihanov S.N., Morenec T.M. Krasnodar: OOO «Kachestvo»; 2009 (in Russian).
49. Avdeeva M.G., Blazhnyaya L.P., Ganzha A.A., Dubinina V.A., Kulbuyeva M.I., Lysenko I.V., Manaeva D.A., Chernyavskaya O.V. Changes in hemogram erythrocyte level in acute viral hepatitis of various etiologies. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2012; 6: 11–6 (in Russian).
50. Tanaka H., Miyano M., Ueda H., Fukui K., Ichinose M. Changes in serum and red blood cell membrane lipids in patients treated with interferon ribavirin for chronic hepatitis C. *Clin. Exp. Med.* 2005; 5 (4): 190–5.
51. Bogomolov P.O., Bueverov A.O., Kuz'mina O.S. et al. The

- efficiency of erythropoietin for treatment of anemia associated with combination antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2007; 17 (1), pril. 29: 21 (in Russian).
52. McHutchison J.G., Manns M.P., Longo D.L. Definition and management of anemia in patients infected with hepatitis C virus. *Liver Inter*. 2006; 26: 389–98.
 53. Colon-Otero G., Menke D., Hook C.C. A practical approach to the differential diagnosis and evaluation of the adult patient with macrocytic anemia. *Med. Clin. North Am.* 1992; 76: 581–97.
 54. Davidson R.J., Hamilton P.J. High mean red cell volume: its incidence and significance in routine haematology. *J. Clin. Pathol.* 1978; 31: 493–8.
 55. Lawrence A.C., Bevington J.M., Young M. Storage of blood and the mean corpuscular volume. *J. Clin. Pathol.* 1975; 28: 345–9.
 56. Nathan D.G., Orkin S.H., Look A.T. et al. *Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood*. Philadelphia: Saunders; 2003.
 57. Kaferle J., Heryl C., Strzoda C.E. et al. Evaluation of macrocytosis. *Am. Fam. Physician*. 2009; 79 (3): 203–8.
 58. Savage D.G., Ogundipe A., Allen R.H. et al. Etiology and diagnostic evaluation of macrocytosis. *Am. J. Med. Sci.* 2000; 319 (6): 343–52.
 59. Gareev R.A. The summary of adsorption and transport function research. Available at: <http://www.econf.rae.ru/pdf/2010/08/gareev.pdf> (in Russian).
 60. Could rybavirin cause macrocytosis, and to whom? Available at: <http://www.ehealthme.com/ds/rybavirin/macrocytosis.phtml>
 61. Could pegasys cause macrocytosis, and to whom? Available at: <http://www.ehealthme.com/ds/pegasys/macrocytosis.phtml>
 62. Harriman GR, Smith PD, Horne MK, et al. Vitamin B12 malabsorption in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Intern Med*. 1989; 149: 2039–41.
 63. Remacha A.F., Cadafalch J. Cobalamin deficiency in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Semin. Hematol.* 1999; 36: 75.
 64. Borgia G., Reynaud L., Gentile I. et al. Pernicious anemia during INF-alpha treatment for chronic hepatitis C. *J. Interferon Cytokine Res.* 2003; 23 (1): 11–2.

Поступила 23.12.13
Received 23.12.13

Сведения об авторах:

Лысенко Ирина Валентиновна, канд. мед. наук, врач генконсульства, генеральное консульство Российской Федерации в Калькутте, Индия, email: lysirine@rambler.ru

В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.98:578.833.28]-078

Азарян А.Р.¹, Гришанова А.П.¹, Иващенко Е.И.¹, Шендо Г.Л.¹, Ковтунов А.И.², Неталиева С.Ж.³, Бабаева М.А.³, Буркин А.В.³, Аршба Т.Е.³, Ларичев В.Ф.⁴, Бутенко А.М.⁴

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ИФА ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА

¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области», 414057, Астрахань, ул. Н. Островского/Кирова, 122/89; ²Управление Роспотребнадзора по Астраханской области, 414057, Астрахань, ул. Н. Островского, 138; ³ГБУЗ АО «Областная инфекционная клиническая больница им. А.М. Ничоги», 414004, Астрахань, Началовское шоссе, 7; ⁴ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 16

В результате сравнительного применения иммуноферментных тест-систем «Anti-West Nile virus ELISA-IgM» фирмы «Euroimmun AG» (Германия) и «Биоскрин-ВЗН-IgM», производства ЗАО БТК «Биосервис» (Россия), предназначенных для серодиагностики лихорадки Западного Нила, установлена очень низкая специфичность системы Anti-West Nile ELISA-IgM, что выражается в регистрации ложноположительных результатов.

Ключевые слова: лихорадка Западного Нила; серодиагностика; тест-системы ИФА-IgM: Euroimmun AG (Германия), Биосервис (Россия); сравнение специфичности.

Azaryan A.R.¹, Grishanova A.P.¹, Ivashchenko E.I.¹, Shendo G.L.¹, Kovtunov A.I.², Netaliev S.Zh.³, Burkin A.V.³, Arshba T.E.³, Larichev V.F.⁴, Butenko A.M.⁴

¹Center of Hygiene and Epidemiology in the Astrakhan region, 414057, Astrakhan, N. Ostrovskogo/Kirova str., 122/89; ²Rospotrebnadzor Management in Astrakhan region, 414057, Astrakhan, N. Ostrovskogo str., 138; ³A. Nichogy region infection hospital, 414004, Astrakhan, Nachlovskoye highway, 7; ⁴D.I. Ivanovsky Institute of Virology, 16, Gamalei str., Moscow, Russian Federation, 123098

As a result of comparative application of enzyme immunoassay “Anti-West Nile virus ELISA-IgM” of the company “Euroimmun AG” (Germany) and “BioScrin-WNV-IgM”, produced by ZAO Biotech company “Bioservice» (Russia), intended for serodiagnosis of West Nile fever there was established very low specificity of “Anti-West Nile ELISA-IgM”, which is manifested in the registration of false positive results.

Key words: West Nile fever; serodiagnosis; ELISA-IgM test; “Euroimmun AG “ (Germany), “Bioservice” (Russia) ELISA kits.

Таблица 1

Результаты обследования сывороток крови 5 больных из ОИКБ в ИФА-тест-системах Euroimmun и Биосервис на антитела к вирусу ЗН

Номер сыворотки	Больные	День обследования от начала заболевания	Диагностические лаборатории			
			ОИКБ, Астрахань	ЦГиЭ, Астраханской области	Волгоградский НИПЧИ	
			тест-системы ИФА			
			Euroimmun IgM	Биосервис IgM	Euroimmun	
				IgM	IgG	
127	Х.М.	14	+* (R±2,18)	0**	0	0
159		31	н/о ***	0	0	0
128	К.	3	+ (R-2,56)	0	0	0
221		31	н/о	0	0	0
129	Я.	5	+ (R-1,8)	1:800	± (R-1,04)	+(R-2,02)
133		10	+(R-1,84)	1:800	+ (R-1,28)	(R-1,92)
130	Х.А.	14	+(R-2,4)	Отр.	+(R-1,75)	0
180		28	н/о	Отр.	н/о	н/о
131	Р.Н.	4	+(R-1,83)	Отр.	Погранич. ± (R-0,99)	0
Контроль IgM+		н/о	н/о	+	н/о	н/о

Примечание. Здесь и в табл. 2: R – Ratio; * + – положительный результат; ** 0 – отрицательный результат; *** н/о – не обследованы.

Серологическая диагностика арбовирусных инфекций проводилась в Астраханской области с 1997 по 2013 г. в вирусологической лаборатории Центра гигиены и эпидемиологии (ЦГиЭ). В 1997–2011 гг. для этой цели использовали иммуноферментные (ИФА) тест-системы производства НИИ вирусологии им.Д.И.Ивановского (Москва), предназначенные для выявления специфических IgM в сыворотках крови больных [1]. В 2013 г. вирусологическая лаборатория ЦГиЭ перешла на применение ИФА-IgM системы ЗАО БТК «Биосервис» (РУ № ФСР 2012/13840 от 10.09.12), которая является коммерческим аналогом тест-системы НИИ вирусологии.

В период с 1997 по 2013 г. в лаборатории было обследовано 13 863 сыворотки (а также пробы СМЖ) от 8464 больных с острыми сезонными лихорадочными заболеваниями с предварительными диагнозами: ОРВИ, серозный менингит, Крымская геморрагическая лихорадка, Астраханская риккетсиозная лихорадка, ВИНЭ, лихорадка Ку и др. В результате этой работы было верифицировано 544 случая лихорадки Западного Нила (ЛЗН), включая 95 случаев в 1999 г.

Тест-системы ИФА-IgM НИИ вирусологии (до 2012 г.) и ЗАО «Биосервис» (в 2012 и 2013 гг.) были апробированы и с успехом применялись также в вирусологических лабораториях ЦГиЭ в Волгограде, Ростове-на-Дону и Краснодаре. При использовании этих диагностикумов предусматриваются обязательные положительные (К+) и отрицательные (К-) контроли, а также параллельное обследование сывороток со специфическим и нормальным антигенами. Учет реакции осуществляется на спектрофотометре при длине волны 450 нм. Положительными считаются пробы сывороток со следующими параметрами: оптическая плотность (ОП) в лунке со специфическим антигеном выше 0,350 о. е.; ОП в лунках со специфическим антигеном превышает ОП с нормальным антигеном в 3 раза и более. Все сыворотки, положительные при первичном скрининге в разведении 1:100, тестируются повторно для определения титра антител. Диагностическим считается титр IgM ≥ 1:800 (согласно МУ 3.1.3.2600 – 10 «Мероприятия по борьбе с лихорадкой Западного Нила (ЛЗН) на территории Российской Федерации»). Выявление специфических IgM возможно в первые дни заболевания, что позволяет проводить экспресс-диагностику ЛЗН сразу после госпитализации больных. При обследовании парных сывороток регулярно обнаруживается диагностически значимая сероконверсия IgM [1, 3]. Результаты тестирования в ИФА-IgM полностью подтверждаются

данными ИФА-IgG [3]. При учете результатов реакции рассчитывается отношение (Ratio) ОП в лунках с сыворотками больных к ОП в лунке с калибратором. Результат считается положительным при Ratio ≥ 1,1, отрицательным при Ratio < 0,8, пограничным (сомнительным) в интервале от 0,8 до 1,1.

В период с 17 мая по 3 июля 2013 г. в лаборатории ОИКБ с использованием наборов Anti-West Nile virus (IgM) фирмы Euroimmun AG были обследованы сыворотки 535 госпитализированных больных. 16 проб от 15 больных с положительным результатом ИФА на IgM-антитела к вирусу ЗН были направлены в вирусологическую лабораторию ЦГиЭ для подтверждения диагноза (согласно МУ 4.2.3009 – 12 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики ЛЗН для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней»). Первые 6 сывороток от 5 больных поступили 29 мая. Раннее появление больных в мае–середине июня вызвало настороженность, так как предшествующими многолетними исследованиями было установлено, что первые случаи ЛЗН в Астраханской области появляются в конце июня и регистрируются до октября месяца, а пик заболеваемости приходится на август–сентябрь [1, 2].

При проверке в лаборатории ЦГиЭ из 6 сывороток, положительных в тест-системе Euroimmun AG, позитивными в тест-системе ЗАО «Биосервис» оказались только две (№ 129 и 133), взятые у больной Я. на 5-й и 10-й дни заболевания. При этом титр IgM антител в обеих пробах составил 1:800. Результаты обследования четырех сывороток (№ 127, 128, 130, 131), а также

Для корреспонденции: Алла Рудольфовна Азарян, зав. вирусологической лаб. ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области», e-mail: marineazaryan@mail.ru

Таблица 2

Результаты обследования сывороток 11 больных из ОИКБ в ИФА-тест-системах Euroimmun и Биосервис на IgM антитела к вирусу ЗН

Номер сыворотки	Больные	День обследования от начала заболевания	Диагностические лаборатории	
			ОИКБ, Астрахань	ЦГиЭ, Астраханской области
174	К.	1	+* (R-7,84)	0**
215		11	н/о***	0
175	Г.	7	+ (R-2,5)	0
182		12	н/о	0
176	И.	1	+ (R-2,4)	0
184		8	н/о	0
177	Л.	11	+ (R-1,9)	0
178	Ч.	4	+ (R-7,0)	0
198	А.А.	9	+ (R-2,19)	0
275		25	н/о	0
199	Д.Д.	8	+ (R-7,0)	0
213		12	н/о	0
245	А.Д.	3	+ (R-9,5)	0
244		7	н/о	0
247	С.	6	+ (R-3,5)	0
258		11	н/о	0
248	Н.	9	+ (R-1,6)	0
181	Д.Е.	7	+ (R-1,7)	0
249		18	н/о	0
Контроль IgM+			н/о	+

проб, полученных от больных Х.М., К. и Х.А. в более поздние сроки (через 31, 31 и 28 дней от начала болезни) были отрицательными (табл. 1). В связи с расхождением полученных данных 04.06.13 г. 6 образцов сывороток были направлены в Волгоградский противочумный институт (являющийся Референс-центром Роспотребнадзора по мониторингу за возбудителем ЛЗН) для проведения дополнительного обследования на IgM- и IgG-антитела к вирусу ЗН, выполненного с использованием тест-систем Euroimmun. В этом случае положительными оказались сыворотки № 133 (на IgM- и IgG-антитела) и № 130 (на IgM при отсутствии IgG), сомнительными на IgM – № 129 и 131 (при отрицательном результате обследования на IgG) (см. табл. 1). Таким образом, с применением наборов Euroimmun диагноз ЛЗН был установлен в 5 случаях в лаборатории ОИКБ Астрахани и в 2 случаях в лаборатории Волгоградского НИПЧИ, а с использованием тест-системы «Биосервис» (в лаборатории ЦГиЭ) только в одном случае. Эти данные свидетельствуют о ложноположительном характере выявления IgM-антител в сыворотках № 127, 128, 130, и 131 с помощью диагностикума Euroimmun.

В июне 2013 г. из ОИКБ в вирусологическую лабораторию ЦГиЭ поступили еще 11 сывороток от 11

больных, позитивных на IgM-антитела к вирусу ЗН (по данным обследования в тест-системе Euroimmun). Все эти пробы, так же как и 8 других, взятых у больных той же группы в более поздние сроки (на 8–25-й день от начала заболевания), оказались отрицательными в тест-системе ЗАО «Биосервис» (табл. 2).

Таким образом, на первом этапе нашей работы серологически было обследовано 16 больных, госпитализированных в ОИКБ Астрахани. Даты их заболевания приходились на период с 6 мая по 29 июня 2013 г. Диагнозы при госпитализации: вирусный менингит и менингит в 5 случаях, вирусная инфекция неясной этиологии в 4 случаях, Астраханская риккетсиозная лихорадка у 3, ОРВИ у 3, аденовирусная инфекция в 1 случае. Возрастное распределение: 1–8 лет – 11; 17 лет – 2; 48–51 год – 3. Дети в возрасте от 1 года до 5 лет были госпитализированы с диагнозами: менингит (4), ВИНЭ (1), ОРВИ (1). Совпадение результатов обследования этой группы пациентов с применением ИФА-тест-систем производства Euroimmun AG и ЗАО Биосервис для выявления IgM-антител к вирусу ЗН составило всего 6,2%. С учетом этих данных ОИКБ в июле 2013 г. приобрела тест-системы БиоСкрин-ВЗН производства компании ЗАО Биосервис, с помощью которых было обследовано 1109 пациентов, при этом IgM-антитела к вирусу ЗН выявлены у 33. При обследовании сывороток крови этих больных в вирусологической лаборатории ЦГиЭ этот результат подтвердился в 32 (97%) случаях.

На основании полученных данных можно сделать заключение, что использованные в работе тест-системы Anti-West Nile virus ELISA-IgM производства фирмы Euroimmun AG не отвечают требованиям специфичности и они не должны применяться для диагностики ЛЗН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азарян А.Р., Гришанова А.П., Бутенко А.М., Ларичев В.Ф., Чалов В.В., Инкина Т.Е., Шендо Г.Л., Джаркенов А.Ф. Серологическая диагностика арбовирусных инфекций в Астраханской области. В кн.: Арбовирусы и арбовирусные инфекции. Материалы расширенного пленума проблемной комиссии «Арбовирусы» и научно-практической конференции «Арбовирусы и арбовирусные инфекции», Астрахань, 17–20 октября 2006 г. М.: «Гриф и К»; 2007: 115–21.
2. Ковтунов А.П., Юстратов В.Б., Никешина Н.Н., Славина А.М., Джаркенов А.Ф., Азарян А.Р., Чалов В.В. Эпидемиологическая характеристика лихорадки Западного Нила в Астраханской области. В кн.: Арбовирусы и арбовирусные инфекции. Материалы расширенного пленума проблемной комиссии «Арбовирусы» и научно-практической конференции «Арбовирусы и арбовирусные инфекции», Астрахань, 17–20 октября 2006 г. М.: «Гриф и К»; 2007: 114–5.
3. Шишкина Е.О. Серологическая диагностика лихорадки Западного Нила: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2003.

REFERENCES

1. Azarian A.R., Grishanova A.P., Butenko A.M., Larichev V.F., Chalov V.V., Inkina T.E., Shendo G.L., Dzharkenov A.F. Serologic diagnosis of arbovirus infections in the Astrakhan region. In: Arboviruses and arboviral infections. Materials of the Problem

- commission «Arboviruses» and scientific-practical conference «Arboviruses and arboviral infections», Astrakhan, 17–20 October 2006. Moscow: “Grif and C^o”; 2007: 115–21 (in Russian).
2. Kovtunov A.I., Yustratov V.B., Nikishina N.N., Slavina A.M., Dzharhenov A.F., Azarian A.R., Chalov V.V. Epidemiological characteristic of West Nile fever in the Astrakhan region. In: Arboviruses and arboviral infections. Materials of the Problem commission «Arboviruses» and scientific-practical conference «Arboviruses and arboviral infections», Astrakhan, 17–20 October 2006. Moscow: “Grif and C^o”; 2007: 114–5 (in Russian).
 3. Shishkina E.O. Serological diagnosis of West Nile fever: Diss. Moscow; 2003 (in Russian).

Поступила 14.02.14
Received 14.02.14

Сведения об авторах:

Гришанова А.П., врач-вирусолог вирусологической лаб. ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области»; **Иващенко Е.И.**, биолог вирусологической лаб. ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области»;

Шендо Г.А., гл. врач ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области»; **Ковтунов А.И.**, руководитель Управления Роспотребнадзора по Астраханской области, гл. государственный санитарный врач Астраханской области, канд. мед. наук, засл. врач РФ; **Неталиева С.Ж.**, врач КДЛ ФБУЗ АО «Областной инфекционной клинической больницы им. А.М. Ничоги», г. Астрахань; **Бабаева М.А.**, зав. лаб. Областной инфекционной клинической больницы им. А.М. Ничоги; **Буркин А.В.**, гл. врач ФБУЗ АО «Областной инфекционной клинической больницы им. А.М. Ничоги», проф., д-р мед. наук, Астрахань; **Ариба Т.Е.**, зам. гл. врача ФБУЗ АО «Областной инфекционной клинической больницы им. А.М. Ничоги», засл. врач РФ, Астрахань; **Ларичев В.Ф.**, вед. науч. сотр. лаб. биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава РФ, канд. мед. наук, Москва; **Бутенко А.М.**, зав. отделом арбовирусов и лаб. биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава РФ, проф., д-р биол. наук, Москва

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ

© БЛОХИНА Н.Н., 2014

УДК 616.98:579.842.23]-084:614.2]:93(470+571)

Блохина Н.Н.

СТАНОВЛЕНИЕ ПРОТИВОЧУМНОЙ СЛУЖБЫ ДОРЕВОЛЮЦИОННОЙ РОССИИ

ФГБУ «Национальный НИИ общественного здоровья РАМН», 105064, Москва, ул. Воронцово поле, 12, стр. 1

Статья посвящена становлению противочумной службы Российской Империи. Проанализированы действия государственных деятелей Российской Империи и практических врачей-эпидемиологов по борьбе с чумой.

Ключевые слова: эпидемия чумы; противоэпидемические мероприятия; история медицины.

Blokhina N.N.

DEVELOPMENT OF THE ANTIPLAGUE SERVICE IN PRE-REVOLUTIONARY RUSSIA

National Research Institute of Public Health, 12/1, building 1, Vorontsovo Pole St., Moscow, Russian Federation, 105064

The article is devoted to the formation of anti-plague service in the Russian Empire. There have been analyzed the actions of public figures of the Russian Empire and practical epidemiologists in the struggle against the plague.

Key words: plague outbreak; plague control measures; history of medicine.

Благодаря действиям такого замечательного учреждения, которым являлся Императорский институт экспериментальной медицины, была создана целая сеть противочумных лабораторий на юго-востоке России: Бактериологическая противочумная лаборатория в Астрахани, в 1912–1914 гг. было организовано еще 6 лабораторий: в Ханской ставке (Астраханская губерния – г. Урда 1909), Новой Казанке (Уральская область), Царицыне, Новоузенске, затем в Александро-Гае (Самарская губерния), Джамбейте (Уральская область). Впоследствии в 1914–1915 гг. прибавилось еще 2 лаборатории – в Заветном и Владимировке (Астраханская губерния). Кроме того, не нужно забывать о том, что в Сибири была

организована еще в 1910–1911 гг. постоянная противочумная лаборатория в Чите. Первоначально в ней работали 2 врача, причем одновременно наблюдательные функции по чуме и холере были возложены на Иркутскую Пастеровскую станцию, находившуюся в ведении железнодорожного ведомства.

Эта сеть противочумных станций дала возможность уже большему числу ученых включиться в изучение природы чумных эпидемий. Достаточно сказать, что в этих пунктах работали такие специалисты своего дела, как погибший от лабораторного заражения чумой И.А. Деминский (1864–1912), Н.А. Гайский (1884–1947), С.М. Никаноров (1885–1942), А.А. Чурилина (1882–1940), Г.И. Кольцов (1875–1920), И.И. Шушкевич (1869–1919) и др.

Несмотря на интенсивную проводимую предупредительную противоэпидемическую работу, чумная инфекция не

Для корреспонденции: **Блохина Наталья Николаевна**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр.

угасала довольно долгое время – в Астраханской губернии в течение 1899–1914 гг. зарегистрирована 81 вспышка с 1931 заболеванием и с 1779 случаями смерти, в Уральской области за 1904–1913 гг. чума наблюдалась в 52 очагах, где заболели 1127 человек и из них умерли 1114.

Чтобы представить себе, каким непростым было начало организации противоэпидемической службы на местах, необходимо обратиться к 17 июля 1901 г., когда было принято решение об открытии в Астрахани врачебно-бактериологической лаборатории Министерства внутренних дел. Задачами Астраханской бактериологической лаборатории, начавшей свою работу 27 декабря 1901 г., были прежде всего установление точного бактериологического диагноза при появлении первых подозрительных на чуму и холеру случаев, а также изучение санитарных и эпидемиологических условий края путем постоянного проведения бактериологических исследований при возникновении чумы и других эпидемиологических заболеваний. Эта станция, расположенная первоначально в непригодных зданиях, имела скромные штаты лаборатории, куда входили: заведующий (первым был известный деятель русской медицины С.В. Констансов), его помощники – фельдшер и служители). «Учреждение это совершенно нового типа, с совершенно особым направлением и особыми задачами, – писал С.В.Констансов, – и поэтому сама жизнь должна сделать в этом отношении свои указания – определить более точно его роль, отметить ближайшие практические задачи и наконец выяснить, насколько это учреждение при данной его организации вообще отвечает запросам времени. Несомненно, что лаборатория должна быть при такой организации, которая давала бы возможность широкой научно-практической деятельности, ибо только при этом условии лаборатория будет всегда находиться на уровне современных научных знаний, будет жить деятельной научной жизнью и успешно справляться с теми непосредственными практическими задачами, которые будут ставить жизнь» [1].

Несмотря на проводимые последовательно целесообразные шаги в деле ликвидации и предупредительных мер, осуществляемых со стороны российского государства против вспышек чумных эпидемий, эпидемиологическая обстановка продолжала оставаться тревожной, да и неутомимые исследователи не могли дать ничего определенного в своих научных изысканиях. Широкое распространение различного рода грызунов в Киргизских степях заставляло думать многих из известных исследователей, что именно они и являются природным резервуаром чумы. Однако бактериологическое обследование свыше 8000 различных грызунов, проведенное М.Г. Тартаковским во время Колобовской эпидемии в 1901 г., дало отрицательные результаты [2].

С 1900 г. противочумная комиссия находилась в ведении Министра внутренних дел. Комиссия имела чрезвычайные полномочия и в случае необходимости объявляла местности угрожаемыми или неблагополучными по эпидемии, что вело к открытию в них санитарно-исполнительных губернских и уездных комиссий, утвержденных «Правилами принятия мер к прекращению холеры и чумы» (11 августа 1903 г.). Местные санитарно-исполнительные комиссии, состоящие в основном из лиц губернской администрации, должны были руководствоваться в своей деятельности указаниями центральной комиссии, представленными в свою очередь в ней государственными авторитетными лицами. Общественные медицинские организации и органы местного самоуправления подчеркивали, что созданием означенной комиссии сокращаются права общественных организаций. Закон от 17 марта 1905 г. позволил войти в состав губернских и уездных санитарно-исполнительных комиссий постоянных членом местных санитарных организаций и врачей городских больниц.

«Высочайше утвержденная комиссия по борьбе с чумной заразой» и санитарно-исполнительные комиссии, образованные согласно законодательно уставным правилам,

становились важным моментом в решении довольно значительного числа вопросов, связанных с задачей быстрой ликвидации возникающих вспышек эпидемий на территории всей страны. Задача ставилась довольно четкая: с учетом единения всех медицинских служб и ведомств, с учетом координации их совместных усилий и действий (прежде всего врачебно-санитарных организаций земской, городской, фабрично-заводской, железнодорожной, внутренних водных путей и др.) можно было реально добиться успеха в деле защиты всех местностей Российской Империи от вспышек эпидемий особо опасных, заразных инфекций.

Несмотря на последовательно проводимые противоэпидемические мероприятия в деле предупреждения чумных эпидемий, несмотря на крупномасштабную научную деятельность врачей и бактериологов, с 1899 г. чумные вспышки в астраханских степях приняли, как тогда писали, «хронический» характер. «Обыкновенно, поздней осенью или зимой где-то в далеких киргизских степях умирает несколько десятков человек. Съезжаются врачи, санитарные отряды принимают противочумные меры и чума прекращается, – писал известный исследователь Н.Н. Клодницкий, – осложнения были в том, что, прекратившись в одном месте, назавтра она вспыхивала в другом, а эпидемиология ее так и оставалась неизвестной». Работали исследовательские и противоэпидемические отряды добросовестно, что и было отмечено общественностью и довольно широко освещалось на страницах печати. Так, за отличное проведение экспедиции в 1901 г. по изучению эпидемий чумы в степях Астраханского края В.И. Исаеву была присуждена Императорским русским географическим обществом медаль им. Семенова-Тянь-Шанского.

В начале 1901 г. в распоряжение принца А.П. Ольденбургского на место эпидемических заболеваний в Астраханской губернии командированы были врачи: профессора Н.Я. Чистович, В.К. Высокович, А.М. Левин, доктора Кашкадамов, Баугольц, Дамскин, Дейкун-Лючаненко, Лучинский, Ягодина и сестры милосердия С.-Петербургских общин Тихомирова, Зандина, Вепус, Колбасова, Михеева и Новицкая.

Довольно активно шла последовательно продуманная противоэпидемическая работа в местах, неблагополучных в эпидемическом отношении. Так, например, на борьбу с сусликом в Самарской губернии в 1904 г. было израсходовано Самарской губернской управой до 50 000 рублей. Борьба велась двумя способами: «выливанием» суслика водой и заправливанием его норки сернистым углеродом. В качестве наставления для борьбы отчасти служила изданная управой брошюра «Суслик и борьба с ним». Борьба велась в четырех уездах: Самарском, Новоузенском, Бузулукском и Николаевском. Маштабы развернутой борьбы впечатляют: «Только в одном Николаевском уезде было уничтожено выливанием водой свыше 880 000 сусликов и затравлено углеродом свыше 860 000 норок» [3].

В 1907 г. вышел в свет «Сборник работ по чуме» под редакцией В.К. Анрепа в двух выпусках. Первый выпуск содержал наблюдения и исследования Д.К. Заболотного, второй – «Чума Астраханского края. (Ее история, эпидемиология и обзор правительственных мероприятий. Авторы: В. Стахович, А.Л. Поленов. Под редакцией В.И. Исаева)».

Несмотря на то что в бескрайних степях между Волгой и Уральским морем отряды самоотверженных врачей-ученых подчас в условиях бездорожья, без телеграфа (связь) все-таки старались локализовать и подавить вспышки чумы, тем не менее, и что довольно парадоксально, с 1912 г. эти вспышки в Астраханской губернии учащаются. Высочайше учрежденной комиссией по мерам предупреждения и борьбы с чумной заразой был собран в 1910 г. съезд всех участников борьбы с эпидемией в Уральской области и в Астраханской губернии. Участники съезда высказали несколько мнений, указывающих на то, каким образом чума сохраняется и распространяется, причем на съезде высказывались защитники каждого из этих мнений.

Гипотеза о том, что суслики и полевые мыши являются бактерионосителями не встретила поддержки участников съезда. Соглашаясь с постановлениями съезда, Высочайше учрежденная комиссия направила научные экспедиции в Киргизскую орду. «В первый год была только одна экспедиция Шурупова, которая занялась исследованием трупов и определением того, насколько в них сохраняется зараза» [4].

В конце XIX века создаются специальные медицинские общества, созываются съезды, чья деятельность направлена на борьбу с заразными болезнями. Достаточно вспомнить, что в 1896 г. (С.-Петербург) открыто «Общество для борьбы с заразными болезнями» с постепенно увеличивающимся числом отделений в самых различных городах Российской Империи. В 1897 г. в Москве было создано Общество микробиологов.

Прежде чем говорить о противоэпидемических съездах в России, необходимо отметить, что историческая справедливость требует, чтобы со всей очевидностью была раскрыта государственная деятельность организаторов здравоохранения – тех врачей, которые работали в Медицинском департаменте и в Управлении главного врачебного инспектора, а также тех, кто, обладая действительно государственным мышлением, работали в Совете по делам местного хозяйства. Именно эти организаторы здравоохранения вместе с значительным числом инициативных врачей смогли организовать значимое число областных съездов по борьбе с холерой, периодические вспышки которой отмечались на юге России.

В связи с угрозой эпидемий активно созывались специальные съезды и совещания по борьбе с отдельными инфекциями – холерой (1892), чумой (1910, 1911, 1914) и др. Вопросы чумной инфекции и раньше включались в программы VI, VII, VIII Пироговских съездов (1896, 1899, 1900). В 1911, 1912, 1915 гг. состоялись 1, 2, 3-е совещания по вопросам бактериологии и эпидемиологии, созданные правлением Общества русских врачей в память Н.И. Пирогова.

По вопросам борьбы с эпидемиями в эти годы часто собирались областные совещания. Об этом свидетельствуют труды Поволжского областного противохолерного съезда в Самаре (Самара, 1908), Областного противохолерного съезда врачей области Войска Донского (Юрьев, 1910), областных съездов Юга России по борьбе с эпидемиями (Харьков, 1910 и Киев, 1913), совещания врачей по санитарным и санитарно-статистическим вопросам (Москва, 1912), совещания по вопросам бактериологии и эпидемиологии (Москва, 1912) и др.

Очень важным в борьбе с эпидемиями было создание в России сети бактериологических институтов, которые открывались во многих городах. Их учредителями были земства, научные медицинские общества, медицинские факультеты университетов, частные лица и пр. В 1906 г. в России было уже 132 бактериологических института [5]. В дальнейшем вплоть до 1917 г. отмечался последовательный рост общего числа этих институтов, причем значительно увеличилась доля частных бактериологических институтов. Характерно, например, что в Казанском бактериологическом институте параллельно с изучением чумы были организованы (практически сразу же после открытия института) курсы для студентов и врачей по подготовке к борьбе с чумой, уже в 1901 г. эти курсы были обеспечены всеми необходимыми пособиями и бактериологическими препаратами.

В 1911г. для лучшего знакомства практических врачей с методами борьбы с чумой в Казанском бактериологическом институте были открыты 6-недельные курсы для подготовки врачей по микробиологии и эпидемиологии чумы и других заразных заболеваний. На курсы приехали врачи из различных губерний. Лекции и практические занятия проводили профессор и преподаватели медицинского факультета Казанского университета Н.Ф. Высоцкий, П.П. Заболотный, М. Аристовский, П.Я. Майков, В.В. Милославский, Ф.Я. Чистович, В.А. Арнольдов. Деятельность этих курсов стала важным этапом в подготовке специалистов-эпидемиологов [6].

Главный врачебный инспектор Л.Н. Малиновский, профессор В.К. Высокович и профессор Д.К. Заболотный во время чумной эпидемии в Одессе (1910) все свои силы отдали делу борьбы с чумой. Благодаря тому, что каждый из указанных деятелей здравоохранения обладал государственным и научным авторитетом, все даваемые ими руководящие указания по борьбе с чумой воспринимались довольно внимательно и деятельно исполнялись. Они принимали участие в заседаниях санитарно-исполнительной комиссии, в совещаниях, организованных при Бюро бактериологической станции. Они посещали «чумные» очаги, наблюдая за своевременной эвакуацией населения, за результатами бактериологических исследований, принимали участие в осмотрах чумных больных. Результатом этой плодотворной работы явилась научная монография, вышедшая под редакцией Д.К. Заболотного, Л.Н. Малиновского и В.К. Высоковича под названием «Чума в Одессе в 1910 году», ставшая настольной книгой для не одного поколения санитарных врачей и эпидемиологов.

Главный врачебный инспектор Л.Н. Малиновский проявлял себя как активный организатор противочумных съездов: в 1910 г. состоялся съезд участников противочумных мероприятий в Астрахани и Уральской области (2–3 апреля, Астрахань). Съезд прошел в деловой обстановке: всем участникам было чем поделиться с коллегами относительно мер борьбы с «чумной заразой».

С 90-х годов XIX века в Российской Империи шла напряженная последовательная противоэпидемическая борьба с вспышками чумы. Была проделана значительная работа по выявлению природных очагов чумы, установлению носителей и переносчиков чумы, определена их роль в развитии эпизоотий. Однако, несмотря на деятельную научно-исследовательскую и противоэпидемическую работу, главные испытания были еще впереди.

ЛИТЕРАТУРА

1. Констансов С.В. Бактериологическая лаборатория МВД в Астрахани. Вестник общественной гигиены, судебной и практической медицины. 1902; апрель: 489.
2. Тартаковский М.Г. Материалы к характеристике чумной эпидемии в Колобовке. Врач. 1900; 33: 1000.
3. Правительственный вестник. 1905; 30 (8 февраля): 4.
4. Хроника и мелкие известия. Врач. 1914; 7: 250.
5. Нечаев С.В. Г.Н. Габричевский – основоположник отечественной микробиологии. 1860–1907. М.; 1960: 192.
6. Больничная газета Боткина. 1901; 3: 125.

Поступила 28.11.13