

И.В. Давыдова^{1, 2}, А.В. Аникин¹, О.В. Кустова¹, А.В. Сиденко¹, Е.Ю. Басаргина¹, Е.В. Павлюкова¹, В.К. Пожарищенская¹

¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

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

Бронхолегочная дисплазия в постсурфактантную эру: результаты объективной оценки течения заболевания

Контактная информация:

Давыдова Ирина Владимировна, доктор медицинских наук, заведующая отделом новых технологий изучения особенностей развития ребенка и амбулаторного контроля за состоянием здоровья НИИ педиатрии НЦЗД, профессор кафедры аллергологии и клинической иммунологии педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 2, тел.: +7 (499) 134-01-67, e-mail: davydova@nczd.ru

Статья поступила: 03.04.2015 г., принята к печати: 28.08.2015 г.

Современные методы респираторной поддержки привели к трансформации течения бронхолегочной дисплазии. Существенная роль принадлежит применению препаратов сурфактанта для профилактики развития респираторного дистресс-синдрома и последующего формирования бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей. В связи с этим необходима объективная оценка эффективности заместительной терапии сурфактантом. В статье представлены результаты изучения закономерностей развития бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей ($n = 121$) различного гестационного возраста. Показано, что у глубоконедоношенных детей на фоне заместительной терапии сурфактантом при рождении преобладает новая форма бронхолегочной дисплазии со среднетяжелым или легким течением. У детей с гестационным возрастом более 32 нед, не нуждающихся в сурфактантной терапии, как правило, формируется классическая бронхолегочная дисплазия.

Ключевые слова: дети, недоношенные, бронхолегочная дисплазия, оценка, заместительная терапия, сурфактант.

(Для цитирования: Давыдова И. В., Аникин А. В., Кустова О. В., Сиденко А. В., Басаргина Е. Ю., Павлюкова Е. В., Пожарищенская В. К. Бронхолегочная дисплазия в постсурфактантную эру: результаты объективной оценки течения заболевания. Вопросы современной педиатрии. 2015; 14 (4): 514–518. doi: 10.15690/vsp.v14.i4.1392)

ВВЕДЕНИЕ

Профилактические стратегии на этапах формирования и течения бронхолегочной дисплазии (БЛД) привели к существенному изменению патоморфоза заболевания на современном этапе. Внедрение новых методов

интенсивной терапии и принципов выхаживания недоношенных детей с экстремально низкой (ЭНМТ) и очень низкой массой тела (ОНМТ) при рождении, в т. ч. профилактического и лечебного использования препаратов сурфактанта, способствовало появлению значительного

I.V. Davydova^{1, 2}, A.V. Anikin¹, O.V. Kustova¹, A.V. Sidenko¹, E.Yu. Basargina¹, E.V. Pavlyukova¹, V.K. Pozharishchenskaya¹

¹ Scientific Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

² Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Bronchopulmonary Dysplasia in Post-Surfactant Era: Results of an Objective Assessment of the Disease

Modern methods of respiratory support have led to the transformation of the course of bronchopulmonary dysplasia. A significant role is played by the use of surfactant preparations for the prevention of respiratory distress syndrome and subsequent formation of bronchopulmonary dysplasia in premature infants. In this connection, an objective assessment of the efficacy of surfactant replacement therapy is required. The article presents the results of studying the patterns of development of bronchopulmonary dysplasia in premature infants ($n = 121$) of different gestational age. It was shown that a new form of moderate or mild bronchopulmonary dysplasia prevailed in extremely premature infants in the course of surfactant replacement therapy. Children of a gestational age greater than 32 weeks who do not require surfactant therapy usually have typical bronchopulmonary dysplasia.

Key words: children, premature, bronchopulmonary dysplasia, assessment, replacement therapy, surfactant.

(For citation: Davydova I. V., Anikin A. V., Kustova O. V., Sidenko A. V., Basargina E. Yu., Pavlyukova E. V., Pozharishchenskaya V. K. Bronchopulmonary Dysplasia in Post-Surfactant Era: Results of an Objective Assessment of the Disease. Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics. 2015; 14 (4): 514–518. doi: 10.15690/vsp.v14.i4.1392)

числа детей с новой формой БЛД, имеющих некоторые клиничко-рентгенологические особенности течения заболевания [1, 2].

Известно, что стимуляция выработки эндогенного сурфактанта у недоношенных детей и/или заместительная терапия экзогенным сурфактантом (ЗТС) влияет на структурно-функциональные изменения респираторной системы ребенка, способствует минимизации проявлений респираторного дистресс-синдрома (РДС), снижению частоты формирования БЛД у недоношенных детей [3, 4].

Аntenатальное применение глюкокортикоидов предотвращает развитие РДС в постнатальном периоде за счет увеличения числа альвеолоцитов II типа, их активации и повышения интенсивности синтеза сурфактанта нерожденного ребенка. В результате происходит снижение неонатальной заболеваемости и частоты формирования БЛД после законченного антенатального курса глюкокортикоидов [5].

Согласно концепции «защиты легких», в раннем постнатальном периоде, до появления клинических признаков РДС, основным протективным фактором является ЗТС. Введение препарата начинают в первые 15 мин жизни, проводят всем детям, родившимся до 27-й нед гестации, а также детям, рожденным на 27–29-й нед гестации в случае, если их матери не получили курс антенатальной стероидной профилактики РДС. Всем детям, родившимся до 32-й нед гестации, которым потребовалась интубация трахеи в родильном зале в связи с развитием дыхательных нарушений, осуществляют раннее терапевтическое введение сурфактанта [6]. Введение сурфактанта выполняют либо интратрахеально, по методике INSURE (интубация трахеи, болюсное введение сурфактанта, экстубация и перевод на NCPAP — от англ. *positive continuous positive airway pressure*, т.е. на дыхание через носовые канюли с постоянным положительным давлением в дыхательных путях), либо спонтанно дышащим очень незрелым детям (22–26 нед гестации) сразу после рождения проводят NCPAP, и с помощью тонкого эндотрахеального катетера болюсно вводят сурфактант без интубации (*surfactant without intubation*, SWI). В результате удается добиться снижения частоты использования системных глюкокортикоидов, частоты формирования БЛД, летальности [6–8].

Согласно современным протоколам выхаживания глубоконедоношенных детей, планомерно внедряемым на территории Российской Федерации с начала нового тысячелетия, подготовлен и осуществлен переход с 2012 г. на критерии живо-и мертворождения, разработанные экспертами Всемирной организации здравоохранения. В результате респираторная поддержка в отделениях неонатальной реанимации перинатальных центров и учреждений родовспоможения страны была приведена в соответствие международным стандартам. В последние годы в практику внедряется еще менее инвазивная методика — LISA (от англ. *less invasive surfactant administration*). При ее использовании ребенка не интубируют, а сурфактант вводят по тонкому катетеру, проведенному в трахею через голосовую щель при сохраняющемся самостоятельном дыхании пациента [9].

Обзорное рентгенологическое исследование органов грудной полости — один из самых распространенных диагностических методов у больных с БЛД, доступный даже в условиях реанимации. Метод рассматривают как основу рентгенодиагностики заболевания, даже несмотря на его недостаточную информативность [10, 11].

«Золотым стандартом» в обследовании пациентов с БЛД является компьютерная томография (КТ) органов грудной полости с высоким разрешением [10, 11]. Этот метод позволяет хорошо визуализировать структурные изменения легочной ткани, не обнаруживаемые на рентгенограмме, а также определять характер и объем поражения дыхательных путей, в т.ч. общую гиперинфляцию, фокусы снижения пневматизации и лентообразных уплотнений, степень поражения бронхов и бронхиол, локализацию эмфизематозных участков, изменения в малом круге кровообращения [11, 12].

Результаты рентгенологических исследований демонстрируют, что признаки БЛД сохраняются у детей и в так называемую постсурфактантную эру [12–14]. В связи с этим изучение рентгенологических аспектов течения и исходов новой формы болезни, безусловно, остается актуальным. Представление о трансформации течения БЛД на фоне совершенствования респираторной поддержки и профилактического и/или терапевтического применения препаратов сурфактанта нуждается в объективной оценке, в т.ч. с применением КТ органов грудной полости. Особо следует подчеркнуть, что у детей первого года жизни в подавляющем большинстве случаев КТ проводится в состоянии естественного сна и не требует медикаментозной седации, что существенно расширяет возможности применения этого метода диагностики у грудных детей.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ НАБЛЮДЕНИЙ

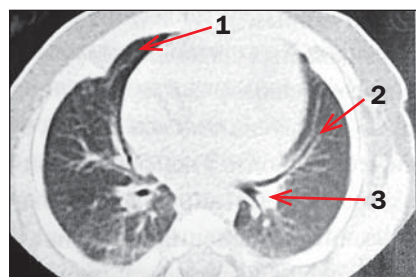
Нами была поставлена задача определить закономерности развития форм и степени тяжести течения БЛД у недоношенных детей различного гестационного возраста на фоне ЗТС. Проанализированы истории болезни и КТ-снимки органов грудной полости у детей с гестационным возрастом при рождении 24–28 ($n = 63$; 1-я группа), 29–32 ($n = 43$; 2-я группа) и 33–38 нед ($n = 15$; 3-я группа).

Изучены данные по использованию препаратов сурфактанта в раннем постнатальном периоде с целью профилактики и лечения РДС. В постнеонатальном периоде верифицированы форма и степень тяжести БЛД у 121 недоношенного ребенка. Форму заболевания устанавливали в соответствии с клиничко-анамнестическими критериями диагностики БЛД [15]. В группу пациентов с новой формой заболевания отнесены недоношенные дети с гестационным возрастом менее 32 нед, у которых применяли препараты сурфактанта для профилактики РДС, а респираторная поддержка была щадящей. Классическую форму БЛД диагностировали у детей с длительной искусственной вентиляцией легких с «жесткими» параметрами вентиляции, не получавших препараты сурфактанта, без учета гестационного возраста при рождении [15].

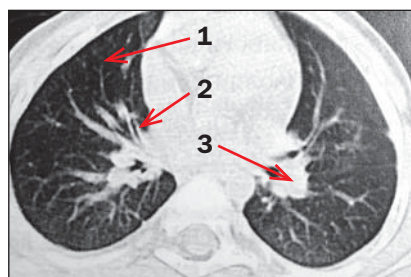
Таблица. Рентгенологическая шкала балльной оценки степени тяжести бронхолегочной дисплазии по данным компьютерной томографии органов грудной полости

Признаки	Баллы		
	0–1	2	3
Степень пневматизации легочной ткани	Умеренное повышение	Повышение, неравномерность	Резкое повышение, неравномерность, буллы
Архитектоника легочного рисунка по долям легких	Обеднен, не деформирован	Обеднен, умеренно деформирован, интерстиций подчеркнут	Резко обеднен на периферии, деформирован
Перибронхиальные изменения легочной ткани	Незначительные	Умеренные, просветы бронхов сужены	Выраженные, просветы деформированы, бронхоэктазы
Распространенность пневмофиброза	Отсутствует	Невыраженный, единичные спайки	Грубый фиброз с признаками объемного уменьшения сегментов, множественные транспульмональные тяжи
Сердечно-сосудистые изменения: легочная гипертензия, кардиомегалии	Отсутствуют	Умеренная легочная гипертензия, может быть кардиомегалия	Выраженная кардиомегалия или гипертрофия правого желудочка, легочная гипертензия
Результат оценки степени тяжести бронхолегочной дисплазии	Легкое, 1–5 баллов	Среднетяжелое, 6–10 баллов	Тяжелое, 11–15 баллов

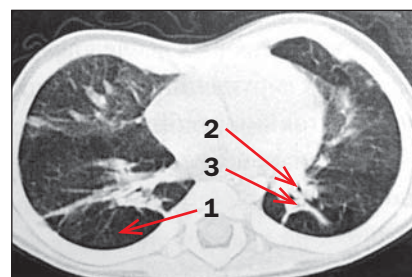
Рис. (А–В). Компьютерные томограммы органов грудной полости (аксиальные срезы) детей с бронхолегочной дисплазией



А. Легкое течение бронхолегочной дисплазии (4 балла)



Б. Среднетяжелое течение бронхолегочной дисплазии (8 баллов)



В. Тяжелое течение бронхолегочной дисплазии (14 баллов)

Примечание. 1 — повышение пневматизации легочной ткани, 2 — перибронхиальные изменения легочной ткани, 3 — пневмофиброз.

Оценку степени тяжести БЛД проводили по сумме баллов на основе шкалы рентгенологических изменений по данным КТ органов грудной полости (метод защищен патентом Российской Федерации [16]; табл.). Каждый диагностический признак оценивали от 0 до 3 баллов, где 0 баллов — отсутствие признака. При сумме баллов от 1 до 5 регистрировали легкое течение болезни (рис. А), от 6 до 10 — среднетяжелое (рис. Б), от 11 до 15 — тяжелое (рис. В) [16].

Ключевыми факторами, определяющими вероятность формирования БЛД, ее форму и тяжесть течения, являются гестационный возраст и масса тела ребенка при рождении. Особенности респираторной поддержки недоношенных новорожденных зависят главным образом именно от этих параметров и четко обозначены в методическом письме Министерства здравоохранения РФ [6]. Очевидно, что ЗТС востребована именно у глубоконедоношенных детей, рожденных задолго до созревания собственной системы сурфактантов в организме. В соответствии с этими отправными моментами мы и проводили распределение больных с БЛД по группам с целью определения основных закономерностей раз-

вития форм и степени тяжести течения БЛД у недоношенных детей различного гестационного возраста на фоне ЗТС.

В 1-й группе, включающей пациентов со сроком гестации 24–28 нед, преобладали дети с ЭНМТ при рождении, получившие ЗТС в 78% случаев (49 детей из 63) в соответствии с протоколами респираторной поддержки глубоконедоношенных детей. Новая форма БЛД была верифицирована у 45 (71%) детей. При этом основную часть пациентов 1-й группы составили дети с легким [14 (22%) детей с суммой баллов по шкале балльной оценки менее 6] и среднетяжелым [36 (57%) детей с суммой баллов менее 10] течением заболевания. Это согласуется с литературными данными, свидетельствующими об уменьшении степени тяжести течения БЛД среди детей с глубокой недоношенностью при условии адекватной респираторной поддержки в раннем постнатальном периоде [2].

Во 2-й группе пациентов, рожденных на 29–32-й нед гестации, преобладали недоношенные дети с ОНМТ при рождении, причем ЗТС с целью профилактики РДС проводили лишь в 65% случаев (28 детям из 43). У паци-

ентов этой группы частота формирования новой формы БЛД с легким вариантом течения не превышала 42% ($n = 18$). Однако, несмотря на преобладание классической формы БЛД у этих пациентов (у 25; 58%), сумма КТ-баллов по шкале балльной оценки более 10 отмечалась лишь у 10 (23%) человек с тяжелым течением БЛД, что сопоставимо с результатами, полученными в 1-й группе пациентов.

Все дети 3-й группы с гестационным возрастом при рождении более 32 нед и массой тела более 2000 г сформировали классическую БЛД, причем ЗТС согласно протоколу раннего терапевтического воздействия на фоне тяжелого течения РДС, сопровождавшегося выраженной дыхательной недостаточностью, проводилась только у 5 (33%) больных. Тяжелое течение БЛД с клиническими признаками дыхательной недостаточности и суммой КТ-баллов более 10 зарегистрировано у 4 (27%) детей этой группы.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Совершенствование реанимационных стратегий обеспечило возможность выхаживания детей с ЭНМТ при рождении и выраженной незрелостью легочных структур, а также предопределило трансформацию течения БЛД за счет иных патогенетических механизмов поражения респираторного тракта [17]. Основным итогом настоящей работы явилось подтверждение патоморфоза БЛД с преимущественным формированием новой формы заболевания с легким и среднетяжелым течением, особенно в группе глубоконедоношенных детей, что было верифицировано на основании объективных рентгенологических критериев (менее 11 баллов у 79% больных, рожденных до 28-й нед гестации).

Во всем мире неоднократно предпринимались попытки объективизировать интерпретацию рентгенологических признаков БЛД. Впервые их количественно оценили по данным КТ в 1998 г. у 22 недоношенных детей 1–37 мес жизни [18]. Наиболее важными рентгенологическими признаками оценки степени тяжести течения БЛД были признаны повышение прозрачности легочной ткани, линейные транспульмональные уплотнения, треугольные субплевральные уплотнения, изменения бронхососудистого рисунка. В России в настоящее время наиболее часто применяемой в клинической практике является описанная выше авторская шкала балльной оценки степени тяжести БЛД по результатам КТ органов грудной полости [16].

Собственные данные, полученные при анализе течения БЛД в досурфактантную (2000–2008 гг.) эру, когда ЗТС еще не получила широкого распространения в России, свидетельствовали о преобладании классической БЛД со среднетяжелым (48%) и тяжелым (28%) вариантом течения заболевания [19]. Успехи неонатальной реанимации способствовали тому, что в настоящее время новая форма БЛД является преобладающей у пациентов с этой патологией. В мировой литературе приводятся данные о том, что ЗТС, проведенная глубоконедоношенным детям с ЭНМТ и ОМНТ сразу после рождения, способствует более легкому варианту течения БЛД с минимальными признаками пневмофиброза

и эмфиземы, но не защищает их от функциональных респираторных нарушений, связанных с незавершенным на момент рождения альвеоло- и ангиогенезом [19]. Дети, рожденные после 32-й нед гестации и имеющие более зрелые легочные структуры, нуждаются в проведении ЗТС только в случае тяжелого течения РДС на фоне внутриутробного инфицирования. По нашим наблюдениям, подобная ситуация возникает не более чем в 33% случаев от общего числа пациентов указанного гестационного возраста. У этих детей БЛД протекает в классическом варианте, с выраженными проявлениями пневмофиброза, что определяет более длительные респираторные нарушения.

Анализ полученных нами данных продемонстрировал высокую эффективность профилактического и/или раннего терапевтического применения препаратов сурфактанта у недоношенных новорожденных с РДС. Особенно велики протективные возможности ЗТС у глубоконедоношенных детей с ЭНМТ при рождении.

Дифференцированный подход к проведению ЗТС у недоношенных детей в зависимости от срока гестации при рождении позволил сократить частоту формирования БЛД с тяжелым классическим вариантом течения заболевания. На наш взгляд, протективные возможности ЗТС далеко не исчерпаны. Наиболее перспективной группой для расширенного использования ЗТС представляются дети, рожденные на 29–32-й нед гестации, которые, по нашим данным, получают сурфактантную защиту только в 65% случаев и достаточно часто (в 58%) формируют классическую БЛД с тяжелым (23%) и среднетяжелым (35%) вариантом течения заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время профилактическое и раннее терапевтическое применение препаратов сурфактанта в сочетании с современной респираторной поддержкой у глубоконедоношенных детей способствуют преобладанию новой формы БЛД со среднетяжелым и легким течением. Объективная оценка степени тяжести заболевания с учетом его клинических проявлений может быть проведена на основе высокотехнологичного метода визуализации — компьютерной томографии органов грудной полости. Варианты течения заболевания с наиболее выраженными морфологическими проявлениями по данным шкалы балльной оценки результатов КТ органов грудной полости встречаются у детей с классической формой БЛД, рожденных с более зрелыми легочными структурами и не получавших ЗТС в постнатальном периоде. На современном этапе проблема БЛД, оставаясь важнейшей в пульмонологии раннего детского возраста, не утратила своей актуальности. Возможность предотвращения формирования БЛД или же развития новой формы заболевания с преобладанием легкого и среднетяжелого вариантов течения определяются современными профилактическими стратегиями респираторной поддержки. Очевидно, что подобная ситуация предполагает увеличение доли благоприятных исходов заболевания вплоть до клинического выздоровления и сопровождается улучшением качества жизни пациентов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки/конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Давыдова И.В. Современные подходы к профилактике, диагностике и лечению бронхолегочной дисплазии. М.: ПедиатрЪ. 2013. С. 17–34.
2. Greenough A., Kotecha S., Vrijlandt E. Bronchopulmonary dysplasia: current models and concepts. *Eur. Respir. Mon.* 2006; 37: 217–233.
3. Рындин А.Ю., Антонов А.Г. Патент на изобретение № 2416388 от 20.04.2011 г. «Способ профилактики бронхолегочной дисплазии у новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении». М. 2011.
4. Jobe A.H., Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 163: 1723–1729.
5. Figueras-Aloy J., Serrano M.M., Rodriguez J.P., Perez C.F., Serradilla V.R., Jimenez J.Q., Gonzalez R.J. SEN1500 Spanish Neonatal Network. Antenatal glucocorticoid treatment decreases mortality and chronic lung disease in survivors among 23-to 28-week gestational age preterm infants. *Am. J. Perinatol.* 2005; 22 (8): 441–448.
6. Антонов А.Г., Борисевич О.А., Буркова А.С., Ионов О.В., Крючко Д.С., Ленюшкина А.А., Рындин А.Ю., Филиппов О.С., Чумакова О.В., Терехова Ю.Е. Методическое письмо «Интенсивная терапия и принципы выхаживания детей с экстремально низкой и очень низкой массой тела при рождении». Под ред. Е.Н. Байбариной, Д.Н. Дегтярёва. М. 2011. 72 с.
7. Engle W.A. Committee on Fetus and Newborn: Surfactant Replacement Therapy for Respiratory Distress in the Preterm and Term Neonate. *Pediatrics.* 2008; 121: 419–432.
8. Kribs A., Hartel C., Kattner E., Vochem M., Kuster H., Moller J. et al. Surfactant without Intubation in Preterm Infants with Respiratory Distress: First Multi-center Data. *Clin. Paediatr.* 2010; 222: 13–17.
9. Copel W., Kribs A., Hartel C., Avenarius S., Teig N., Groneck P. et al. Less invasive surfactant administration in associated with improved pulmonary outcomes in spontaneously breathing preterm infants. *Acta Paediatr.* 2015; 104 (3): 241–246.
10. Mahut B., De Blic J., Emond S. Chest computed tomography findings in bronchopulmonary dysplasia and correlation with lung function. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonat. Ed.* 2007; 92 (6): 459–464.
11. Shin S.M., Kim W.S., Cheon J.E., Kim H.S., Lee W., Jung A.Y., Kim I.O., Choi J.H. Bronchopulmonary dysplasia: New High Resolution Computed Tomography Scoring System and Correlation between the High Resolution Computed Tomography Score and Clinical Severity. *Korean J. Radiol.* 2013; 14 (2): 350–360.
12. Sarria E.E., Mattiello R., Rao L., Tiller C.J., Poindexter B., Applegate K.E. et al. Quantitative assessment of chronic lung disease of infancy using computed tomography. *Eur. Respir. Crit. J.* 2012; 39: 992–999.
13. Aukland S.M., Rosendahl K., Owens C.M., Fosse K.R., Eide G.E., Halvorsen T. et al. Neonatal bronchopulmonary dysplasia predicts abnormal pulmonary HRCT scans in long-term survivors of extreme preterm birth. *Thorax.* 2009; 64: 405–410.
14. Ochiai M., Hikino S., Yabuuchi H., Nakayama H., Sato K., Ohga S., Hara T. A new scoring system for computed tomography of the chest for assessing the clinical status of bronchopulmonary dysplasia. *J. Pediatr.* 2008; 152: 90–95.
15. Классификация клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей. Под ред. А.Г. Чучалина. М. 2009. С. 9–10.
16. Яцык Г.В., Давыдова И.В., Кустова О.В., Симонова О.И., Цыгина Е.Н., Смирнов И.Е. Патент на изобретение № 2401066 от 10.10.2010 г. «Способ оценки степени тяжести бронхолегочной дисплазии». М. 2010.
17. Bancalari E., Claure N., Sosenko I.R.S. Bronchopulmonary dysplasia: changes in pathogenesis, epidemiology, and definition. *Semin. Neonatol.* 2003; 8: 63–71.
18. Kubota J., Ohki Y., Inoue T., Sakurai M., Shigeta M., Mochizuki H., Aoki J., Morikawa A., Endo K. Ultrafast CT scoring system for assessing bronchopulmonary dysplasia: reproducibility and clinical correlation. *Radiat. Med.* 1998; 16: 167–174.
19. Давыдова И.В. Формирование, течение и исходы бронхолегочной дисплазии у детей. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М. 2010. 48 с.

Из истории медицины



Фредерик Гриффит

Роль ДНК в передаче наследственной информации

Эксперимент О. Эвери, К. Маклауда и М. Маккарти, произведенный в феврале 1944 г., доказал, что веществом, вызывающим трансформацию бактерий, является ДНК. Это явилось первым материальным доказательством роли ДНК в наследственности.

Работа ученых стала кульминацией исследований, начатых британским офицером, медиком Фредериком Гриффитом в 1928 г. В эксперименте Гриффита убитые пневмококки (*Streptococcus pneumoniae*) вирулентного штамма III-S, введенные с живыми невирулентными пневмококками штамма II-R, вызывали инфекцию типа III-S. До этого открытия бактериологи полагали, что штаммы не изменяются от поколения к поколению. В эксперименте Гриффита, проведенном в условиях *in vivo*, было установлено, что какой-то «трансформирующий агент» заставляет пневмококки превращаться из одного штамма в другой. Гриффит многие годы занимался серологическим типированием пневмонии. Он предполагал, что штаммы, склонные к вирулентности, и невирулентные штаммы превращаются друг в друга (но не думал, что разные штаммы могут одновременно заражать один организм). Проверив свою догадку, Гриффит показал, что трансформация может происходить в случае, когда мышью иммунизировали убитыми бактериями вирулентного штамма и живыми бактериями невирулентного штамма. Позднее из умерших мышей были выделены живые бактерии вирулентного штамма.

Данные, полученные Гриффитом, были подтверждены Нойфельдом (Институт Коха) и М. Досоном (Рокфеллеровский институт), разработавшим метод трансформации клеток бактерий *in vitro*. Д. Эллуэй предпринял попытки продолжить исследования Гриффита и в 1933 г. получил водный экстракт трансформирующего агента. К. Маклауд работал над

очисткой этих растворов с 1934 по 1937 г. Исследования были продолжены в 1940 г. и завершены М. Маккарти.

Пневмококки в норме образуют гладкие (то есть крупные, с ровной поверхностью) колонии и имеют полисахаридную капсулу, компоненты которой и запускают образование антител. В ходе эксперимента пневмококки, образующие гладкие колонии, были убиты нагреванием, и из них извлечен компонент, растворимый в соленой воде. Белки были осаждены хлороформом, а полисахаридные капсулы, обуславливающие антигенные свойства бактерий, гидролизированы специфичным ферментом. Для подтверждения полного гидролиза капсул была проведена процедура иммунопреципитации специфическими антителами. После разделения в спирте из полученной активной фракции были выделены волокнистые тяжи.

Химический анализ показал, что соотношение углерода, водорода, азота и фосфора в полученном осадке соответствует соотношению этих же элементов в молекуле ДНК. Для подтверждения того, что действующим началом трансформации является именно ДНК, а не РНК, белки или другие компоненты клетки, О. Эвери с сотрудниками обработали смесь трипсином, химотрипсином, рибонуклеазой, что никак не повлияло на трансформирующие свойства, и лишь обработка ДНКазой приводила к их разрушению. Таким образом, было установлено, что действующим началом бактериальной трансформации является дезоксирибонуклеиновая кислота.