



Рис. 2. «Собственный» эффект иммунокоррекции неовиром у больных хламидиозом глаз

Обозначения: * - вектор динамики параметра в позитивную сторону, остальные обозначения см. рис.1

УДК 616.36-002-14:578.615

ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ ПРИ ИНФЕКЦИИ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С

А.А.Дьяченко, А.Г.Дьяченко

118 КДП СибВО, Новосибирск, Россия, Сумский госуниверситет, Украина

Изучался цитокиновый профиль у 84 больных острым и хроническим гепатитом С (ОГ и ХГ), циррозом печени (ЦП) и гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК). Обнаружено значительное повышение уровня основных иммунорегуляторных молекул IFN γ и IL-2 у всех ВГС инфицированных пациентов, причем максимальные значения наблюдались при ОГ. У хронически инфицированных пациентов концентрация этих цитокинов положительно коррелировала со стадией заболевания. У всех ВГС инфицированных наблюдалось существенное повышение уровня провоспалительных цитокинов TNF α и IL-1 ρ также зависимым от поражения печени образом. Концентрация IL-6 была повышена у всех инфицированных, а IL-8—только в начальных стадиях заболевания. Уровень противовоспалительного цитокина IL-4 был заметно ниже нормы при ХГ, а концентрация IL-10 менялась мало.

Ключевые слова: вирус гепатита С, хронический гепатит, цитокины.

CYTOKINE PRODUCTION IN HEPATITIS C VIRUS INFECTION

A.A.Dyachenko, A.G.Dyachenko

118 KDP, SybVO, Novosybirsk, Russia, Sumy State University, Ukraine

Cytokines that are secreted as a response to viral antigens not only have direct antiviral properties but also crucially influence determining the outcome of infection. To compare the profile of cytokine secretion by peripheral blood lymphocytes in acute and chronic hepatitis C virus

infection, we analyzed the cytokine serum level in 84 patients with HCV infection (10 of them with acute hepatitis /AH/, 36 patients with chronic hepatitis /CH/, 22 patients with liver cirrhosis /LC/, and 16 with hepatocellular carcinoma /HCC/). The serum levels of IFN γ and IL-2 were maximum in patients with AH and significantly lower in other groups of patients. Higher concentrations of proinflammatory cytokines TNF α , IL-1(3, and IL-6 were found in sera of all patients compared to healthy controls. The IL-8 cytokine level was increased only in patients with AH. There was a dependence between the Th1 cytokines concentrations and liver damage. In HCV infected subjects serum IL-4 was lowered in chronic HCV infection no matter the stage of disease. There was no difference between serum IL-10 level in patients with CH and healthy controls.

Key words: Hepatitis C virus, chronic hepatitis, cytokines.

Вирус гепатита С (ВГС) является главной причиной парентеральных не-А, не-В гепатитов /5/. Его распространенность в общей популяции колеблется от 0,15% (Скандинавия) до 44% (Египет, Камерун) /5/. Острая ВГС инфекция протекает, как правило, бессимптомно. Лишь у 10-15% больных острым гепатитом (ОГ) обнаруживаются минорные клинико-лабораторные манифестации процесса. Однако у 80% и более больных ОГС инфекция становится персистентной. Хронический гепатит С (ХГС) является ведущим фактором риска развития цирроза печени (ЦП) и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). Примерно у 20% инфицированных ВГС процесс прогрессирует до фиброза и цирроза /22,23/. От 20 до 90% последних в течение 5 лет умирает от ГЦК /18,19,22,26/. Математическое моделирование, проведенное с учетом быстро увеличивающейся группы риска (инъекционные наркоманы), предсказывает 4-кратный рост смертности от связанной с ВГС печеночной декомпенсацией и ГЦК /22/. Поэтому столь важным представляется найти ответы на следующие вопросы: каковы особенности антивирусного иммунного ответа в первые недели острой ВГС инфекции у индивидуумов с самоизлечивающимся заболеванием? В чем заключается успешная противовирусная иммунная стратегия организма? Наконец, каковы причины персистирующей инфекции?

В настоящее время твердо установлено, что ВГС инфекция индуцирует сильные гуморальный и клеточный иммунные ответы /5/. Белки кора, NS3 и NS4 являются наиболее иммуногенными антигенами как для В-клеток, так и для HLA-II-рестрицированных CD4+ Т-клеток. Инфильтрирующие печень CD8+ цитотоксические лимфоциты (ЦТЛ) распознают эпитопы в пределах кора, E1, E2/NS1 и NS2 белков посредством HLA-I антигенов. Ответы ЦТЛ на коровый и другие белки регистрируются в периферической крови больных хроническим гепатитом (ХГ). Хотя ответы ВГС-специфических эффекторных В- и Т-клеток могут привести к элиминации вируса, в большинстве случаев они не способны воспрепятствовать переходу ВГС инфекции в хроническую форму. До сих пор не обнаружены протективные В- и Т-клеточные эпитопы. Совершенно очевидно, что неадекватный иммунный ответ играет фундаментальную роль в незавершенности острой инфекции, превращению ее в персистирующую и, очевидно, в патогенезе повреждения печени при ХГ.

Определяющую роль в иммунном ответе играют цитокины. Они принимают участие в развитии воспалительного процесса и играют важную роль в повреждении печени, активируя цитотоксические эффекторные механизмы. По данным ряда авторов, ВГС инфекция приводит к стимуляции продукции цитокинов ТЫ типа—интерферона гамма и интерлейкина 2 /20,25/. Повышенные уровни провоспалительных цитокинов интерлейкина 1 бета и фактора некроза опухолей альфа установлены при хроническом гепатите С /17/. Согласно другим данным, ВГС и ВГВ инфекции повышают сывороточную концентрацию

интерлейкинов 4 и 6, одновременно снижая уровень интерлейкина 2 /3/. Целью настоящей работы было исследование изменений экспрессии основных иммунорегуляторных молекул при разных формах ВГС инфекции от острой до хронической, включая ее осложнения: цирроз печени (ЦП) и гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Всего под наблюдением состояло 84 серопозитивных пациента, из них 61 мужчин и 23 женщин. В группе мужчин 21 человек были призывного возраста. У них наблюдался только острый или хронический гепатит С без осложнений. Средний срок наблюдения составлял $3,9 \pm 1,0$ год (от 1,2 до 4,5 лет). Острая ВГС инфекция была установлена у 10 больных и подтверждена сероконверсией, повышением уровня сывороточной аланинаминотрансферазы (АЛТ) и появлением в крови ВГС РНК. За время наблюдения у 4 из них концентрация АЛТ снизилась до нормы, а вирусная РНК из крови исчезла. У остальных уровень АЛТ оставался персистентно повышенным, а ВГС РНК обнаруживалась в крови вплоть до прекращения наблюдения.

У 36 пациентов в соответствии с существующей классификацией был установлен хронический ГС. Все пациенты были позитивны на анти-ВГС антитела. Вирусная РНК была обнаружена у 23 больных. Вирусная нагрузка была определена у 18 пациентов и составляла от $2 \cdot 10^4$ до $8 \cdot 10^6$ ВГС геномов на 1 мл сыворотки. 15 больных были обследованы на содержание минус-нити ВГС РНК, и у 6 из них были обнаружены репликативные интермедиаTM. Уровень АЛТ был повышен у 15 пациентов этой группы.

Группы больных с циррозом печени и гепатоцеллюлярной карциномой включали 22 и 16 человек соответственно. Диагноз ЦП во всех случаях верифицирован гистологически. Все обследованные были ВГС-серопозитивны.

В качестве контроля использовали кровь 25 здоровых мужчин-доноров призывного возраста.

Поскольку положительный результат анти-ВГС ИФА считается недостаточным для установления факта инфекции /20/, мы использовали следующие критерии истинной ВГС инфекции: положительный результат ИФА с набором второго поколения (Abbott Laboratories) и фактором превышения не менее 3,0, наличие в сыворотке РНК ВГС, повышенный уровень АЛТ (выше 40 ед/л). Помимо этого определяли наличие антител к вирусам ГА (анти-HAV-IgM) и ГВ (анти-HBc-IgM, анти-HBs).

Важнейшим маркером ВГС инфекции является обнаружение вирусной РНК. Современные варианты полимеразной цепной реакции (ПЦР) позволяют выявить РНК ВГС в крови 100% больных ХГ независимо от стадии патологического процесса /14/. Мы наличие или отсутствие вирусных частиц в крови пациентов определяли при помощи обратнотранскриптазного варианта полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР), используя набор Ампликор (Hofmann-La Roche). ВГС РНК выделяли из 100 мкл сыворотки при помощи лизирующего буфера, содержащего гуанидинизотиоцианат. После инкубации при 60° С в течение 10 мин добавляли равный объем изопропанола, и РНК осаждали центрифугированием. Осадок промывали 70% этанолом и растворяли в бисиновом буфере, содержащем марганец. Дальнейшая процедура соответствовала инструкции изготовителя набора. Чувствительность теста составляла 100-200 вирусных геномов/мл. Для количественного определения вирусной нагрузки использовали конкурентный вариант ОТ-ПЦР с теми же праймерами к 5'-нетранслируемой области генома. Праймеры к той же генной области были использованы и для детекции минус-нити ВГС РНК.

Концентрацию цитокинов в крови определяли при помощи коммерческих иммуноферментных наборов на: интерферон гамма (IFN γ), интерлейкин 1 бета (IL-1(3)), интер-

лейкин 2 (IL-2), интерлейкин 4 (IL-4), интерлейкин 6 (IL-6), интерлейкин 8 (IL-8), интерлейкин 10 (IL-10), фактор некроза опухолей альфа (TNF α).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Известно, что острый гепатит С протекает в основном без выраженных симптомов интоксикации. У 7 из 10 наблюдавшихся нами больных с острой ВГС инфекцией была квалифицирована легкая форма, у остальных— среднетяжелая. Иктеричность была умеренно выраженной при уровне билирубина от 27,5 до 215 мкмоль/л. Нормализация уровня билирубина происходила в сроки от 2 до 6 недель. В отличие от билирубина активность АЛТ не зависела от степени тяжести и в среднем составляла $967,4 \pm 108,2$ ед/л. У всех больных этой группы имелись основные маркеры ВГС инфекции:

антитела к вирусным белкам и вирусная РНК.

В группе хронических больных только у 41,6% уровень АЛТ был умеренно повышен (от 63,5 до 181,7 ед./л). Средняя активность АЛТ в сыворотке пациентов с ХГ составляла $52,7 \pm 21,7$ ед/л. У значительной части этих больных наблюдалась активная фаза инфекции, поскольку у 23 из них была выявлена вирусная РНК (средний уровень нагрузки составлял около $2,1 \cdot 10^6$ копий/мл), а у 6—репликативная форма генома. В то же время примерно у половины больных клинические симптомы болезни отсутствовали.

Все больные с повреждением печени (цирроз и ГЦК) содержали в крови анти-ВГС антитела и были серонегативны в отношении вирусов гепатита А и В. У 19 из 22 больных ЦП повреждение печени носило умеренно выраженный характер (группа В по классификации Чайлд- Турко): содержание билирубина от 48,7 до 86,3 мкмоль/л, концентрация альбумина от 31,2 до 33,8 г/л, средний уровень АЛТ $59,1 \pm 28,4$ ед/л. У 3 пациентов с выраженным фиброзом концентрация альбумина была ниже 30 г/л, уровень билирубина колебался от 75,4 до 152,6 мкмоль/л при нормальной активности трансаминаз. У больных ГЦК наблюдалась II-III стадия процесса при среднем уровне билирубина Таблица

Концентрация цитокинов в сыворотке крови ВГС инфицированных пациентов (пкг/мл)

| | Норма | ОГ | ХГ | ЦП | ГЦК |
|--------------------------------|-----------------|-------------------|------------------|--------------------|--------------------|
| Th1-цитокины | | | | | |
| INF γ | 35.7 \pm 7.2 | 278.4 \pm 69.1* | 65.3 \pm 13.4* | 101.9 \pm 15.7* | 99.1 \pm 18.7* |
| IL-2 | 26.9 \pm 8.8 | 184.6 \pm 25.7* | 61.8 \pm 12.4* | 107.4 \pm 16.6** | 117.3 \pm 21.1** |
| Провоспалительные цитокины | | | | | |
| TNF α | 12.5 \pm 6.1 | 50.5 \pm 14.5* | 64.2 \pm 19.1* | 129.4 \pm 32.9** | 117.8 \pm 27.5** |
| IL-1 β | 41.7 \pm 16.4 | 78.4 \pm 21.2* | 90.1 \pm 18.6* | 168.7 \pm 25.6** | 151.3 \pm 17.4** |
| IL-6 | 14.8 \pm 9.3 | 85.44 \pm 17.1* | 66.9 \pm 11.5* | 97.2 \pm 22.7* | 84.1 \pm 19.7* |
| IL-8 | 17.5 \pm 3.9 | 135.1 \pm 36.4* | 48.6 \pm 12.5* | 15.1 \pm 9.6 | 13.9 \pm 5.8 |
| Противовоспалительные цитокины | | | | | |
| IL-4 | 42.1 \pm 8.2 | 35.6 \pm 17.4 | 16.4 \pm 8.1* | 11.5 \pm 7.3* | 19.2 \pm 6.4* |
| IL-10 | 13.1 \pm 7.4 | 20.4 \pm 6.6* | 18.5 \pm 5.7 | 12.3 \pm 4.5 | 16.7 \pm 9.3 |

Примечание: *—достоверные различия по сравнению с нормой, **—
достоверные различия по сравнению с ХГ.

124,7±46,2 мкмоль/л и концентрацией альбумина в пределах 30 г/л. В сыворотке крови 17 из 38 больных ЦП и ГЦК была выявлена ВГС РНК.

У всех больных с маркерами ВГС инфекции в периферической крови наблюдался умеренный лейкоцитоз при увеличении относительного и абсолютного содержания лимфоцитов, прежде всего несущих маркер CD3 (Т-лимфоциты). Однако эти изменения были за пределами достоверности ($p > 0,1$).

При исследовании цитокинового профиля больных с маркерами ВГС инфекции обнаружены существенные и разнонаправленные изменения содержания многих лимфокинов в сыворотке крови (табл.). Обнаружено значительное повышение концентрации цитокинов Т-хелперных лимфоцитов 1 типа (Th1): IFN γ и IL-2, причем максимальный уровень этих цитокинов, в несколько раз превышающий контрольные значения, отмечен при ОГ. В сыворотке других групп больных концентрация IFN γ и IL-2 снижается, тем не менее достоверно превышая контрольные значения ($p < 0,01$). У больных с серьезным поражением функции печени (ЦП и ГЦК) концентрация IFN γ и IL-2 была достоверно повышена не только по сравнению с нормой, но и с ХГ.

Анализ статуса провоспалительных цитокинов (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8) показал значительный рост секреции всех иммуномедиаторов этой группы. Продукция цитокинов TNF α и IL-1 β при ОГ и ХГ была достоверно выше по сравнению с контролем, а при ЦП и ГЦК наблюдался дальнейший рост их концентрации. Наблюдавшийся рост концентрации IL-6 не зависел от формы заболевания, а повышение уровня IL-8 отмечено только при ОГ и ХГ. При ЦП и ГЦК концентрация этого цитокина не отличалась от нормы. Отмечается связь этого показателя со степенью активности инфекции: у хронических больных в активной фазе концентрация IL-8 превышала контрольные значения ($p < 0,05$), в то время как при персистентной инфекции достоверной разницы с контролем не выявлено (66,5±18,7 и 22,7±11,3 пкг/мл соответственно).

Обращает на себя внимание, что у всех больных не изменено (IL-10) или подавлено (IL-4) накопление противовоспалительных цитокинов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, проведенные исследования выявили значительные изменения в уровнях иммунорегуляторных цитокинов, что свидетельствует о выраженной патологии иммунной системы у пациентов с ВГС инфекцией. Нами обнаружено существенное повышение сывороточной концентрации IL-2 и особенно IFN γ , входящих в набор иммунорегуляторных молекул, характерный для Th1 клона Т-лимфоцитов, что может отражать усиление активности Т-хелперных клеток первого типа. Это кажется вполне естественным, учитывая хорошо известный факт, что вирусная инфекция активирует в первую очередь клеточное звено иммунитета. Хронизация приводит к уменьшению накопления этих цитокинов в сыворотке в концентрациях, тем не менее, превышающих уровень контроля. По нашему мнению, это отражает неоднородность контингента больных ХГ, который составляют пациенты, находящиеся в фазе ремиссии и фазе обострения. Динамика иммунорегуляторных процессов в этих фазах имеет противоположную направленность. Литературные данные, касающиеся этого вопроса, также противоречивы. Так, при некоторых хронических заболеваниях (бронхиты, артриты) наблюдается значительное снижение секреции набора цитокинов Th1 типа [1,2]. В ряде работ показана повышенная экспрессия IFN γ и IL-2 при ХГС *in vivo* и *in vitro* [17,20,25]. Эта повышенная экспрессия цитокинов

Th1 клон Т-лимфоцитов наблюдается и при осложнениях ХГ, т.е. циррозах и ГЦК. Более того, согласно полученных данных, сывороточная концентрация IFN γ и IL-2 при ЦП и ГЦК достоверно превышает не только уровень контроля, но и сывороточную концентрацию при ХГ. Это означает, что Th1 цитокины или Th1 клетки принимают активное участие в патогенезе повреждения печени при хронической ВГС-инфекции. Указанные цитокины являются основными индукторами цитотоксической активности различных киллерных клеток. В числе прочих могут активироваться клоны аутореактивных эффекторных клеток. Чрезмерная активация их может привести к аутоиммунным реакциям. С другой стороны, значительное увеличение содержания IL-2 в конечном итоге может привести к формированию иммунологического ответа супрессорного типа /7/. IFN γ и IL-2 являются синергическими ауто- и паракринными регуляторами роста CD4 $^{+}$ Т-лимфоцитов. Одной из важнейших функций этих лимфокинов является поддержка экспансии клеток с цитотоксической активностью. Биологическая необходимость обеих этих функций при ВГС инфекции очевидна. Недавно полученные данные указывают на то, что в формировании успешной противовирусной стратегии организма при самоизлечивающемся ОГС важная роль принадлежит сильному специфическому и сбалансированному ответу CD4 $^{+}$ Т-клеток /12,13,24/. В числе прочего, примированные Т-лимфоциты индуцируют экспансию CD5 $^{+}$ В-лимфоцитов, наблюдающуюся при легких формах инфекции /10/. В задачу цитотоксических клеток входит уничтожение инфицированных вирусом клеток и освобождение организма от инфекции. Наблюдается это, к сожалению, не более, чем в 10-15% всех случаев острой ВГС-инфекции. В остальных же случаях иммунная система оказывается не в состоянии очистить организм от вируса.

Как острая, так и хроническая инфекции индуцируют повышение концентрации в крови т.н. провоспалительных цитокинов: TNF α , IL-1 ρ , IL-6, IL-8. Следует отметить, что уровень TNF α и IL-1 ρ при ЦП и ГЦК достоверно превышал не только контрольные значения, но и уровень их при ОГ и ХГ. При этом отсутствовала корреляция с параметрами воспалительного процесса (активность АЛТ) или вирусной нагрузкой, но прослеживалась четкая взаимосвязь со степенью функциональных нарушений (протромбиновое время, концентрация сывороточного альбумина). Таким образом, уровень секреции по крайней мере части провоспалительных цитокинов отражает скорее степень дисфункции печени, чем активность воспалительного процесса. Вообще, активность АЛТ при ВГС инфекции имеет скорее ориентировочное, нежели диагностическое значение. Уровень трансаминаз не зависит от фазы инфекции, гистологической картины или вирусной нагрузки и остается нормальным у значительной части больных как острым, так и хроническим гепатитом, создавая тем самым терапевтическую дилемму: нуждаются ли они в лечении интерфероном и рибаверином, поскольку в ряде случаев оно приводит к повышению уровня АЛТ /9,11/. Позитивная корреляция между уровнем TNF α и активностью патологического процесса в печени обнаружена и другими авторами /4/.

Сывороточная концентрация IL-6 возрастает при ОГ и остается примерно на том же уровне на всех последующих этапах прогрессирования заболевания вплоть до ГЦК. Уровень IL-8 зависит, кажется, от активности воспалительного процесса: он максимален при ОГ, заметно снижается при хронической инфекции (особенно в неактивной фазе) и падает до нормы при циррозе. Значительное повышение уровня провоспалительных цитокинов при ХГС и особенно ассоциированных с вирусом ГС ЦП и ГЦК обнаружили и другие исследователи /17,23/. Следует признать, что формирование хронического гепатита сопровождается значительным повышением уровня провоспалительных цитокинов, которые во многом определяют характер патологического процесса и степень его выраженности и, вероятно, способствуют прогрессированию заболевания.

Воспалительный процесс сопровождается не только увеличением продукции ряда цитокинов, но и нарушением тонкого баланса между отдельными цитокинами, между лигандами и их рецепторами и рецепторными антагонистами. В литературе имеются данные о серьезном дисбалансе, зависящем от активности воспалительного и фиброзного процессов, между IL-13 и его рецепторным антагонистом /16/. Показана также корреляция между сывороточным уровнем растворимого рецептора TNF α (sTNFR) и степенью и активностью фиброзного процесса /27,29/. TNF α и его растворимый рецептор являются маркерами активации макрофагов. Следовательно, можно считать обоснованным предположение о важной роли таких эффекторных клеток как макрофаги в формировании персистентного гепатита посредством модулирования Th1/Th2 ответов *in vivo*. Опубликованные данные о резком увеличении экспрессии моноцитами крови больных ХГ растворимых лейкоцитарных антигенов 1 класса (sHLA-I) /6/ предполагают важную роль этих антигенов в дисфункции Т-лимфоцитов при ХГ. sHLA-I могут либо взаимодействовать с Т-клеточными рецепторами, передавая ингибирующий сигнал, либо включать апоптоз цитотоксических Т-лимфоцитов, индуцируя экспрессию CD95 лиганда. Оба эти события благоприятствуют репликации ВГС и прогрессирующему поражению печени. Действительно, в крови больных ХГ процент апоптоза в Т-клетках был в 3 раза выше, чем у здоровых людей /15/. Одновременно при ХГ значительно снижается экспрессия моноцитами/макрофагами IL-12—п्लीрипотентного активатора клеточного иммунитета /28/.

В отличие от провоспалительных уровень противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 меняется при ВГС инфекции в значительно меньшей степени. Концентрация первого из них при ОГ остается неизменной и достоверно снижается при ХГ и его осложнениях. Уровень IL-10 остается стабильным при всех формах болезни. Известно, что IL-4 индуцирует дифференцировку и пролиферацию Т-хелперов второго типа, принимающих участие в основном в гуморальном иммунном ответе. Кроме того, этот цитокин способен индуцировать экспансию клеток с цитотоксической активностью. IL-10 во многом синергичен с эффектами IL-4. Возможно, недостаток именно этих медиаторов иммунитета приводит к наблюдаемому при ХГ гуморальному иммунодефициту, когда отмечается резкий недостаток продукции антител к большинству вирусных антигенов /8/. Литературные данные, касающиеся секреции противовоспалительных цитокинов немногочисленны и противоречивы.

Таким образом, представленные данные указывают на значительную патогенетическую роль иммунных нарушений в процессе формирования хронического воспалительного процесса и его осложнений при ВГС инфекции.

10

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Славянская Т.А., Сепиашвили Р.И., Вишняков М.Н. Иммунореабилитация больных ревматоидным артритом на амбулаторном и санаторно-курортном этапах лечения// *Int.J.Immunorehabilit.*—1999.— №11.— Р. 144-155.
- 2.Славянская Т.А., Сепиашвили Р.И., Вишняков М.Н., Чихладзе. Иммунологический мониторинг больных хроническим бронхитом в динамике восстановительной иммунореабилитации// *Int.J.Immunorehabilit.*—1999.— №11—Р. 70-80.
3. Курамшин Д.Х., Толоконская Н.П., Кожевников В.С. и др. Показатели эффекторного звена иммунитета и содержание цитокинов в сыворотке при вирусном гепатите С и сочетанной форме инфекции С+В// *Аллергология и иммунология.*—2000.—Т. 1 —N2.—С. 107.

4. Ягода А.В., Гейвандова Н.И., Хубиев Ш.М., Цупрунова Д.С. Фактор некроза опухоли ос при хронических вирусных гепатитх: патогенетическая роль, пути фармакологической коррекции// Иммунология.—2000.—В.2.— С.36-38.
5. Alvarado-Esquivel C., Leroux-Roels G. Immunologia de la hepatitis C// Rev. InvestClin—1999.— V.51(5).—P.315-322.
6. Antonaci S., Jirillo E., Schiraldi O. Soluble HLA class I antigens in chronic hepatitis C: a disease-associated manifestation, or molecules modulating immunoresponsiveness?// Immunopharmacol. Immunotoxicol—1999.—V.21 (4).— P.727-738.
7. Bergella A.M., Pelligrin P., Del Beato T. et al. The significance of an increase in sIL-2R level in colorectal cancer and its biological regulating role in the physiological switching of the immune response cytokine network from TH1 to TH2 and back// Cancer. Immunol—1998.— V.45(5).—P.241-249.
8. Chen M., Sallberg M., Sonnerborg A. et al. Limited humoral immunity in hepatitis C virus infection// Gastroenterology.—1999.—V.116.—P. 135-143.
9. Choi Y., Putti T., Win K. et al. Correlation of viral RNA, alanine aminotransferase, and histopathology in hepatitis C virus-associated hepatitis// Mol.Diagn—1999.—V.4(3).—P.251-254.
10. Curry M.P., Golden-Mason L., Nolan N. et al. Expansion of periferal blood CD5- B-cells is associated with mild disease in chronic hepatitis C virus infection// J.Hepatol—2000.— V.32(1).—P.121-125.
11. Di-Bisceglie A.M. Chronic hepatitis C viral infection in patients with normal serum alanine aminotransferases// Am.J.Med.—1999.—V.107(6B).—P.52S-55S.
12. Diepolder H.M., Gerlach J.-T., Zachoval R. et al. Immunodominant CD4+ T-cell epitope within nonstructural protein 3 in acute hepatitis C virus infection// J.Virol—1997— V.71(8)— P.6011-6019.
13. Diepolder H.M., Zachoval R., Hoffmann R.M. et al. Possible mechanism T-lymphocyte response to nonstructural protein 3 in viral clearance in acute hepatitis C virus infection// Lancet.—1995— V.346.—P.1006-1007.
14. Duvoux C., Pawlotsky J.M., Bastie A. et al. Low HCV replication levels in end-stage hepatitis C vims-related liver disease// J.Hepatol.—1999.—V.31(4).—P.593-597.
15. Emi K., Nakamura K., Yuh K. et al. Magnitude of activity in chronic hepatitis C is influenced by apoptosis of T-cells responsible for hepatitis C vims// J.Gastroenter. Hepatol.—1999.— V.14(10).—P.1018-1024.
16. Gramantieri L., Casali A., There D. Et al. Imbalance of 11-1 beta and 11-1 receptor antagonist mRNA in liver tissue from hepatitis C vims (HCV) - related chrome hepatitis// Clin. Exp. Immun—1999.— V.115(3).—P.515-520.
17. Huang Y.S., Hwang S.J., Chan C.Y. et al. Serum levels of cytokines in hepatitis C-related liver disease : a longitudinal study// Chung Hua I Hsuch Tsa Chin Taipei—1999.—V.62(6).— P.327-333.
18. Ikeda K., Sactoh S., Arase Y. et al. Effect of interferon therapy on hepatocellular carcinogenesis in patients with chronic hepatitis type C// Hepatology.—1999.— V.29(4)—P.1124-1130.
19. Kato Y., Hamasaki, Aritomi T. et al. Most of the patients with cirrhosis in Japan die from hepatocellular carcinoma// Oncol.Rep.—1999.—V.6(6).—P.1273-1276.
20. Kawakami Y., Nabeshima S., Furusyo N. et al. Increased frequency of interferon-gamma-producing peripheral blood CD4+ T cells in chronic hepatitis C virus infection// Am.J.Gastroenterol.—2000.—V.95(1).—P.227-232.
21. Kim Y.S., Lee H.-S., Ahn Y.-O. Factors associated with positive predictability of the anti-HCV ELISA method with cofirmatory RT-PCR// J.Korean Med— 1999— V. 14(6).—P.629-634.

22. Lawrence S.P. Advances in the treatment of hepatitis C// *Adv.Intern.Med.*— 2000.— V.45—P. 65-105.
23. Masumoto T., Ohkubo K., Yamamoto K. Et al. Serum IL-8 levels and localization of IL-8 in liver from patients with chronic viral hepatitis// *Hepatogastroenterology.*—1998.— V.45(23).—P.1630-1634.
24. Missale G., Bertoni R., Lamonaca V. et al. Different clinical behaviors of acute hepatitis C virus infection are associated with different vigor of the anti-viral cell-mediated immune response// *J. Clin. Invest.*—1996.—V.98.—P.706-714.
25. Naveau S., Balian A., Degos F. et al. Prognostic value of the soluble interleukin-2 receptor in chronic hepatitis C treated with interferon-alfa// *J.Hepatol.*—1999.— 1999.—V. 31 (receptor in chronic hepatitis C treated with interferon-alfa// *J.Hepatol.*—1999—1999— V.31(1).— P.612-617.
26. Seffl. Natural history of hepatitis C// *AmJ.Med.*—1999.—V.107(6B)— P.10S-15S.
27. Weiss G., Umlauf F., Urbanek M. Et al. Associations between cellular immune effector function, iron metabolism, and disease activity in patients with chronic hepatitis C virus infection// *J. Infect. Dis.*—1999.— V.I 80(5).—P. 1452-1458.
28. Yamashiki M., Nishimura A., Huang X.X. et al. Effects of the Japanese herbal medicine "Sho-Saiko-to" (TJ-9) on interleukin-12 production in patients with HCV-positive liver cirrhosis// *Dev.Immunol.*—1999.—V.7(1).—P. 17-22.
29. Zilberberg H., Rimaniol A.C., Pol S. et al. Soluble tumor necrosis factor receptors in chronic hepatitis C: a correlation with histological fibrosis and activity// *J. Hepatol.*—1999— V.30(2)—185-191.

УДК 616.33/342:616.9

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИЗУЧЕНИЯ СВОЙСТВ ШТАММОВ
HELICOBACTER PYLORI У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЖЕЛУДКА И
ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ.

А.А. Кишкун, С.Л. Арсенин

Медицинский центр Банка России, Москва

Изучалась роль методов Western-blot и полимеразной цепной реакции (ПЦР) в установлении генотипа *Helicobacter pylori* у больных с заболеваниями желудка и двенадцатиперстной кишки. Показано, что «CagA+» серотип и генотип *H. pylori* чаще выявляется у больных язвенной болезнью, чем у пациентов с хроническим гастритом. Между серотипом *H. Pylori* определенным методом Western-blot и генотипом бактерий, выявленным методом ПЦР (CagA ген) существует прямая зависимость, что позволяет использовать любой из этих методов для определения генотипа, прогноза течения *Helicobacter pylori*-ассоциированных заболеваний.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, Western-blot, полимеразная цепная реакция, серотип, генотип, болезни желудка, двенадцатиперстной кишки.

MODERN OPPORTUNITIES OF STUDING HELICOBACTER PYLORI IN
PATIENTS WITH GASTRODUODENTAL DISEASES

A.A. Kishkun, S.L. Arsenin

Medical Center of Bank Russia, Moscow

The role of methods Western-blot and polymerase chain reaction (PCR) in an establishment of a genotype *Helicobacter pylori* (H.P.) at the patients with diseases of a stomach and duodenal intestine was studied. The serotype and