

22. Lawrence S.P. Advances in the treatment of hepatitis C// *Adv.Intem.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.Herpatol.*—1999.— 1999.—V. 31 (receptor in chronic hepatitis C treated with interferon-alfa// *J.Herpatol.*—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

genotype H.P. is shown, that “CagA +” is more often taped at the patients by a peptic ulcer, than at the patients with chronic gastritis. Between a serotype *H. Pylori* by the certain method Western-blot and genotype of bacterium’s revealed method PCR (CagA gene) exists direct dependence, that allows to use any of these methods for definition of a genotype, forecast of current *H. pylori*-associated diseases.

Key words: *Helicobacter pylori*, Western-blot, polymerase chain reaction, serotype, genotype, illness of a stomach, disease of a duodenal intestine.

Механизм повреждения слизистой оболочки желудка (СОЖ) и двенадцатиперстной кишки при инфекции *Helicobacter pylori* (НР) изучен в последние годы достаточно подробно. На клиническом и экспериментальном материале доказано, что НР стимулирует апоптозы, тем самым усиливая гибель клеток в краях язв, что и затрудняет их заживление. Наиболее выраженной апоптозной активностью обладают CagA+ (cytotoxin-associated деле А) штаммы НР [18]. Поэтому получение данных о свойствах штаммов НР (продуцируют ли они CagA и VacA - vacuolating cytotoxin A) у пациентов имеет важное практическое значение для обоснования адекватного лечения.

В своих исследованиях М. Plebani и соавт. [16], В.Д. Пачесников и соавт. [6] показали, что инфицирование CagA-положительными (серотип 1) штаммами НР является фактором риска развития выраженного воспалительного ответа в СОЖ. Л.И. Аруин [1], J. Rudi и соавт. [19] приводят данные о том, что пациенты с CagA+ штаммами НР в значительно большей степени подвержены риску развития язвенной болезни и рака желудка, чем инфицированные CagA-штаммами.

В настоящее время получить данные о генотипе штаммов НР возможно методом ПЦР, а о серотипе - серологическими методами - Western-blot и определением антител к CagA белку НР.

Western-blot - встречная преципитация в геле антител сыворотки крови больного с различными белками НР мечеными зондами, подвергнутыми разделению по молекулярной массе с помощью электрофореза и нанесенными на нитроцеллюлозу. Метод Western-blot позволяет визуализировать полный серологический профиль НР, обнаружить и дифференцировать более вирулентный тип I НР от типа II, а добавление собственного рекомбинантного протеина НР (антигена) отличать текущую инфекцию (Current infection marker - маркер текущей инфекции) от ранее перенесенной.

Следует отметить, что серотип НР не всегда может совпадать с обнаруживаемым у больных генотипом штаммов НР. Это в первую очередь обусловлено типом иммунного ответа на присутствие и повреждающее действие бактерий [5]. В связи с чем, для более правильного представления о штаммах НР у каждого отдельного пациента наряду с исследованием серотипа необходимо определять генотип бактерий. По данным P.S. Gangar-Zandzou и соавт [12] при двухлетнем наблюдении основные показатели хеликобактерного гастрита прогрессировали главным образом у носителей CagA+ штаммов НР. Н.И. Магоос и соавт [14] при длительном наблюдении (18 лет) взрослых, инфицированных НР, установили, что атрофический гастрит развивается гораздо чаще у носителей CagA+ штаммов НР, по сравнению с лицами инфицированными CagA-штаммами НР.

Поэтому целью данного исследования было изучение роли различных методов диагностики в установлении генотипа НР у больных с заболеваниями желудка и двенадцатиперстной кишки.

Материалы и методы исследования

В основу работы положены результаты обследования 89 больных хроническим гастритом (ХГ), язвенной болезнью желудка (ЯБЖ) и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки (ЯБДК) в фазе обострения, а также группа больных (21 человек) без гастро-дуоденальной патологии. Из 89 больных 63 пациента страдали ЯБДК, 11 человек ЯБЖ с

локализацией процесса в пилорической зоне и 15 пациентов с ХГ. У всех обследованных больных диагноз был установлен на основании клинико-anamnestических сведений, данных эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) и верифицирован морфологически.

Всем больным обследование проводилось по единому плану. Во время ЭГДС проводилась визуальная оценка слизистой оболочки и прицельная биопсия. Для гистологического исследования брали по два биоптата из слизистой оболочки антрального и фундального отделов и из области угла желудка или луковицы двенадцатиперстной кишки. По одному биоптату для бактериологического исследования и быстрого уреазного теста из тех же мест. Для полиме разной цепной реакции (ПЦР) использовали материал после его гомогенизации и бактериологического посева.

Наличие НР в биоптатах выявляли с помощью гистологического и бактериологического методов, уреазного теста, а также метода ПЦР с определением генов *UreC* и *CagA* НР. Кроме этого, в сыворотке крови, взятой из вены, исследовали наличие антител к *CagA* белку НР методом иммуноферментного анализа (ИФА) и Western-blot.

Гистологический метод. Биопсийный материал фиксировали в 10 % забуференном по Лили растворе формалина, заключали их в парафин и готовили срезы. Подготовленные для гистологического исследования препараты окрашивали по методу Гимзы. НР при этом окрашивались в темно-синий цвет и были хорошо видны как на поверхности эпителия, так и в глубине ямок. При микроскопическом изучении материала оценивали степень обсемененности НР, характеризовали изменения структуры слизистой оболочки различных отделов желудка (атрофия, метаплазия), оценивали взаиморасположение инфекта и ткани, выраженность и активность воспалительной реакции. Для этих целей использовали визуально-аналоговую схему оценки, предложенную M.F. Dixon и соавт. [10].

Быстрый уреазный тест. Это исследование проводили при помощи теста «Pronto Dry» фирмы «Medical Instruments Corporation». «Pronto Dry» - новое поколение быстрого полуколичественного уреазного теста для диагностики инфекции НР в клинической лаборатории. Он состоит из сухой фильтровальной бумаги на которую нанесены мочевины, феноловый красный (индикатор рН) и буфер. Фильтровальные бумажки помещены в запечатанный пластиковый пакет (слайд) и имеют желтую окраску. Предварительно снимали этикетку со слайда (ячейка должна быть желтого цвета), после чего в ячейку добавляли воду для смачивания фильтровальной бумаги и обеспечения лучших условий для контакта биопсийного материала. Стерильной иглой переносили полученный биопсийный материал из щипцов эндоскопа на слайд. Слайд с биоптатом помещали в термостат (37° С) на 3 ч для ускорения реакции. Через 3 ч слайд вынимали и держали при комнатной температуре. Результаты теста оценивали через 5 мин, 30 мин, 1 ч и 24 ч. Тест расценивался как положительный при изменении цвета окраски слайда от желтого до ярко красного.

Бактериологический метод. Биоптаты для бактериологического исследования помещали в специальные транспортные среды «Кэри-Блэр», «Bio-Merieux» и доставляли в лабораторию не позднее чем через 2 ч. Перед посевом на питательные среды проводили ручную гомогенизацию биопсийных образцов в 0,5 мл стерильного физиологического раствора с соблюдением всех правил асептики. Далее производили посев гомогенизата на 2 питательные среды: неселективную (колумбийский агар фирмы «Oxoid», 7,5 % донорской крови) и селективную (колумбийский агар фирмы «Oxoid», 7,5 % донорской крови, цефзулодин 5 мг/л, ванкомицин 10 мг/л, триметоприм 5 мг/л, амфотерицин 5 мг/л, трифенилтетразолиум хлорид 40 мг/л среды). Чашки инкубировали при температуре 37°С в микроанаэростатах с использованием специальной газовой среды со сниженным парциальным давлением кислорода и увеличенным содержанием CO_2 в течение 3-7 дней. Оптимальный состав газовой среды создавался с помощью пакетов «Campygen» фирмы «Oxoid» [13]. При получении культуры осуществляли ее идентификацию путем изучения морфологических и биохимических характеристик НР.

Метод ПЦР. Определение ДНК НР в биоптатах осуществляли наборами реагентов НПФ «Литех». Для экстракции и очистки ДНК НР кусочек ткани слизистой оболочки же-

лудка или двенадцатиперстной кишки помещали в 100 мкл лизирующего раствора, включающего 10мМ Трис-НСl рН 8,8, 25 мМ ЭДТА, 100 мкг/мл протеинкиназы К и инкубировали до полного растворения. К раствору добавляли 10 мкл водяной суспензии сорбента и 300 мкл буфера, состоящего из 10мМ Трис НСl рН 8,0, 5,5 М гуанидинтиоционата, 10 мМ ЭДТА. Суспензию инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин, периодически встряхивая, после чего осаждали сорбент центрифугированием несколько секунд при 12 тыс. об/мин. Супернатант удаляли с помощью вакуумного насоса, а сорбент дважды промывали 70 % этанолом и высушивали при 60 °С в течение 10 мин. Очищенную ДНК элюировали 50 мкл деионизированной воды. В качестве мишеней для мультиплекс-ПЦР использовали гены UreC и CagA. Реакцию амплификации проводили в объеме 30 мкл. Реакционная смесь содержала 10 мМ Трис НСl рН 8,3, 50 мМ КСl, 2 мМ Mg²⁺, 50 мкМ каждого дНТФ, 10пкМ каждого праймера (к гену UreC: прямой 5'-TCACCCCATGTTTGTGATGCG-3", обратный: 5'-GCACGATCCTTAAACTCTGTAAATT-3"; к гену CagA: прямой 5'-ATCAAAAACCAATCGTTGATAAGA-3", обратный: 5'-TCCTGCAAAAGATTGTTTGGCAGA-3", 1 ед. Taq-полимеразы и 5 мкл анализируемого очищенного образца. Амплификацию проводили в приборе «Gene-Amp 9600» (фирма «Perkin Elmer»). После проведения 40 циклов в режиме: 94 °С-20 с, 50 °С-20 с, 72 °С-45 с, продукты амплификации идентифицировали в 1,5 % агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Амплифицированный фрагмент гена UreC составлял 492 п.о., фрагмент гена CagA - 303 п.о.

Определение антител к CagA белку HP методом ИФА. Исследовали сыворотку, полученную из венозной крови путем центрифугирования. Для определения антител к CagA белку HP использовали диагностические тест-системы «CagAssay» (Cytotoxin Associated Gene-A) фирмы «Biomérica». При проведении исследований строго придерживались инструкции, прилагаемой фирмой к тест-системе. Положительными, т.е. содержащими антитела к CagA белку HP, признавались пробы оптическая плотность (ОП) которых превышала величину положительного Cut-off; отрицательными, т.е. не имеющими антител, - пробы ОП которых была ниже отрицательного Cut-off.

Метод Western-blot. Сыворотки крови пациентов исследовали с помощью тест-систем «HELICO BLOT 2.1» фирмы «Genelabs Diagnostics». «HELICO BLOT 2.1» позволяет обнаружить антитела к специфическим белкам HP, включая такие антигены как CagA, VacA, UreA и другие. Кроме специфических антигенов HP на нитроцеллюлезный стрип нанесен рекомбинантный антиген с высокой предсказательной величиной индикации текущей инфекции HP (Current infection marker). Исследовали сыворотку венозной крови, полученную путем центрифугирования. При проведении исследований строго придерживались инструкции, прилагаемой к диагностической тест-системе. Результаты исследования расценивались как положительные по следующим критериям:

- 116 кД (CagA) положительный, где CagA должен быть представлен в одной или более полосе; 89 кД (VacA), 37 кД, 35 кД, 30 кД (UreA) и 19,5 кД вместе, или с маркером текущей инфекции;
- присутствие одной полосы в области 89 кД, 37 кД или 35 кД с маркером текущей инфекции или без него;
- присутствие обеих полос в области 30 кД (UreA) и 19,5 кД вместе с маркером текущей инфекции или без него.

Наличие маркера текущей инфекции оценивали как положительный результат, его отсутствие - как отрицательный.

Серотипы HP анализировались с помощью программы AutoScan 2.0. При этом получали графическое изображение антигенного профиля HP, по результатам которого различали 4 серотипа в зависимости от наличия или отсутствия антител к антигенам CagA и VacA в сыворотке крови: тип I (CagA+, VacA+), тип Ia (CagA+, VacA-), тип Ib (CagA-, VacA+) и тип II (CagA-, VacA-) [15, 17].

Результаты и их обсуждение

Частота обнаружения НР различными методами приведена в таблице №1.

Таблица №1

Частота обнаружения НР различными методами у обследованных

Наименование исследования	Группы больных, частота обнаружения НР, %			
	ЯБДК n=63	ЯБЖ n=11	ХГ n=15	Без гастродуоденальной патологии, n=21
Гистологическое	85,7	81,2	73,3	23,8
Бактериологическое	79,3	72,7	53,3	19,0
Уреазный тест	82,5	81,8	60,0	28,5
ПЦР:				
UreC ген НР	84,1	72,7	60,0	23,8
CagA ген НР	80,9	81,8	53,3	14,3
Определение антител к CagA белку НР	57,1	63,6	33,3	19,0
Western-blot: антитела к CagA белку	90,5	90,9	60,0	28,5
маркер текущей инфекции	87,3	81,8	53,3	23,8

Как видим из таблицы, частота распространения НР у больных ЯБДК, ЯБЖ ХГ, подтвержденная как гистологическим исследованием (85,7 %, 81,2 %, 73,3 % соответственно), так и другими методами соответствует уже известным литературным данным [3, 4]. Наиболее часто НР обнаруживается всеми приведенными методами при ЯБДК и ЯБЖ. Это подтверждает мнение о высокой корреляции между язвенной болезнью и НР.

Обращает на себя внимание и тот факт, что антитела к CagA белку у больных ЯБДК обнаруживаются в 1,5 раза (у 57,1 % больных), а у пациентов с ЯБЖ в 1,9 раза (у 63,6 % больных) чаще, чем у больных с хроническим гастритом (у 33,3 % пациентов). Приведенные данные согласуются с мнением о том, что штаммы НР обладающих CagA+ фенотипом чаще всего обнаруживают при язвенной болезни (у 90 % больных язвенной болезнью и лишь у 48 % больных хроническим гастритом) [8, 9, 11]. Тот факт, что антитела к CagA белку в наших исследованиях выявляются значительно реже, чем по данным литературы, по-видимому связан с низкой аналитической чувствительностью использованных тест-систем «CagAssay», так как частота выявления антител к CagA белку при использовании метода Western-blot, соответствует литературным источникам. Другой возможной причиной низкой выявляемости антител к CagA белку может быть гетерогенность штаммов НР, и как следствие использование в тест-системах «CagAssay» антигенов, которые реже встречаются у больных в России, по сравнению с западными странами.

Результаты серотипирования методом Western-blot и определением антител к CagA белку НР методом ИФА представлены в таблице №2 и рис 1-2 .

Таблица №2

Серотипы НР и частота их обнаружения у обследованных лиц.

Серотип	Группы больных, частота обнаружения серотипа НР, %
---------	--

	ЯБДК n=63	ЯБЖ n=11	ХГ n=15	Без гастродуоденальной патологии, n=21
I (CagA+, VacA+)	77,7	81,8	40,0	9,5
Ia (CagA+, VacA-)	11,1	9,1	13,3	9,5
Ib (CagA-, VacA+)	1,6	0	0	4,8
II (CagA-, VacA-)	0	0	6,7	4,8
Антитела к CagA	57,1	63,9	33,3	19,0

Как видно из таблицы, наиболее часто у больных язвенной болезнью выявлялись серотипы инфекции HP 1 типа (77,7 % у больных ЯБДК и 81,8% у больных ЯБЖ). У больных ХГ частота выявления HP 1 серотипа составила 40,0 %, а у больных без гастродуоденальной патологии лишь 9,5 %. Результаты наших исследований близки к полученным J.C. Atherton и соавт. [9], N. Figura [11]. Особо следует подчеркнуть, что у пациентов с Iб и II серотипами, бактерии HP в СОЖ гистологическим и бактериологическим методами выявлены не были, что согласуется с результатами других исследователей [7, 15]. Полученные данные указывают на то, что штаммы HP, продуцирующие CagA и VacA белки (I серотип) чаще встречаются у больных язвенной болезнью и, по-видимому, играют важную роль в повреждении СО. В связи с этим определение серотипа инфекции HP может быть использовано в качестве показателя риска возникновения язвенной патологии у инфицированных пациентов.

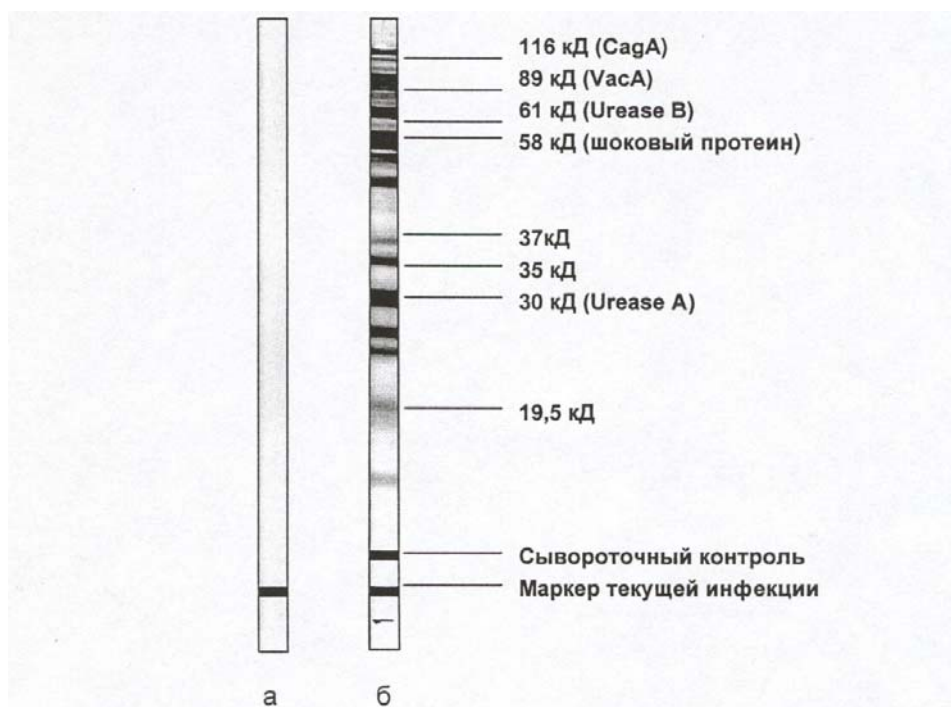
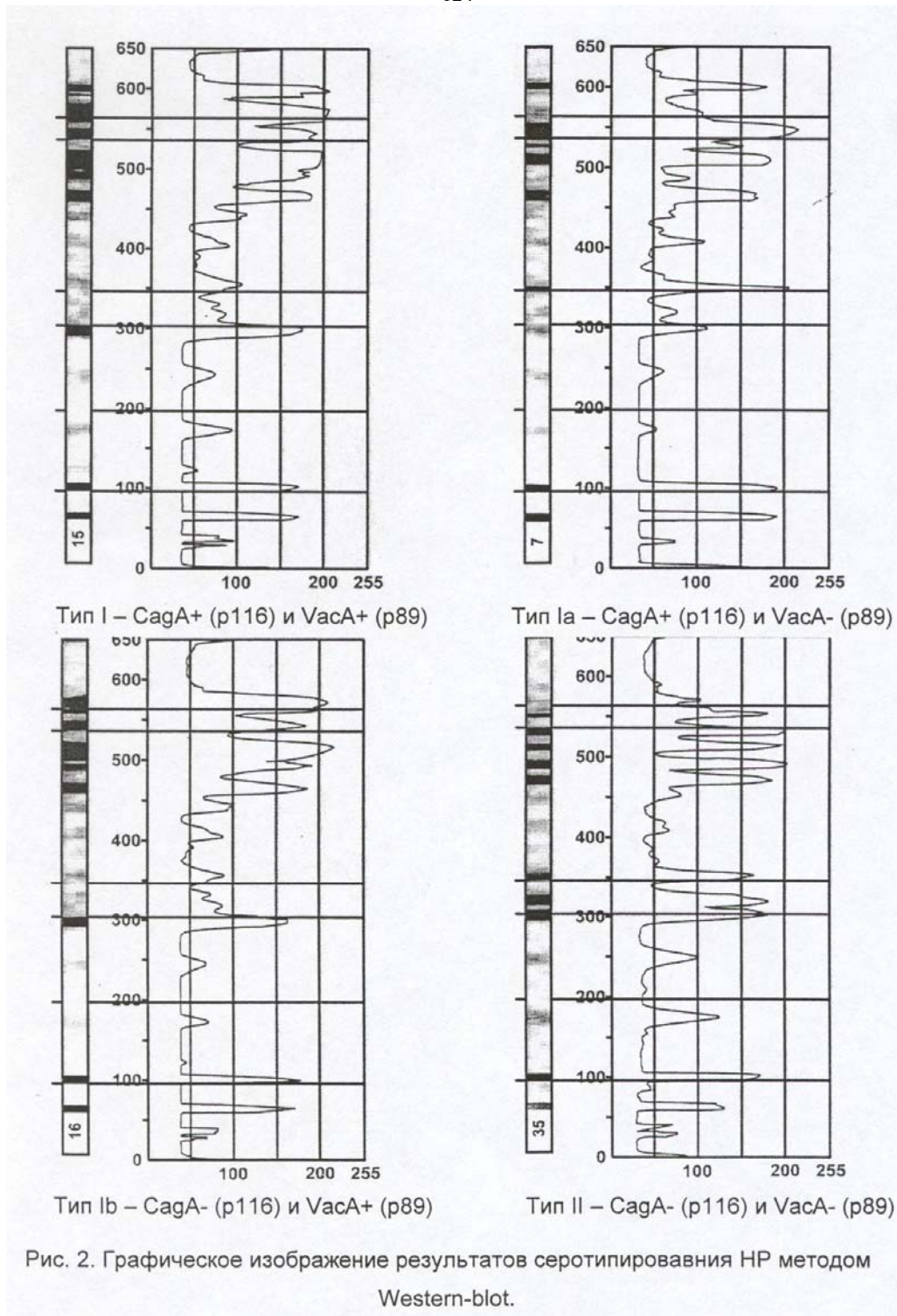
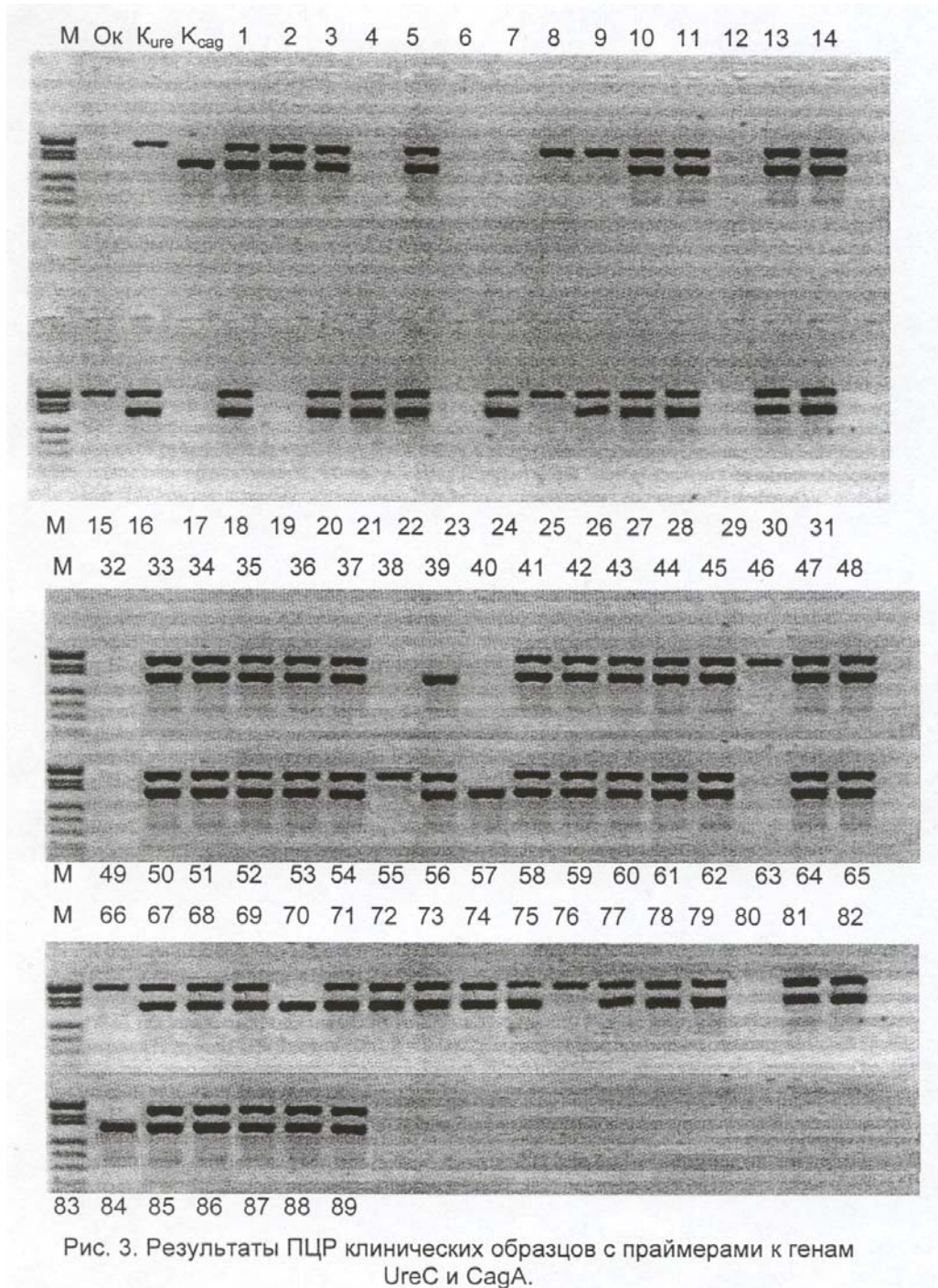


Рис. 1. Отрицательный (а) и положительный (б) контроли в Western-blot.

Несмотря на то, что частота выявления антител к CagA белку HP с использованием тест-систем «CagAssay» во всех группах больных ниже чем при применении Western-blot, тем не менее у больных ЯБДК (57,1 %) и ЯБЖ (63,6 %) они определяются чаще чем при ХГ (33,3 %) и у пациентов без патологии желудочно-кишечного тракта (19,0 %).



Пропущена страница 10.



M – маркер молекулярных масс pUC19/MspI; Ok – отрицательный контроль; K_{ure} – положительный контроль на ген UreC; K_{cag} – положительный контроль на ген CagA. 1-89 клинические образцы.

Следует отметить, что у всех пациентов с CagA-положительным генотипом при гистологическом исследовании отмечалась выраженная активность воспалительной реакции со стороны СОЖ.

Нами проанализировано совпадение результатов исследований серотипа НР методом Western-blot и генотипа НР, полученными при помощи ПЦР (по выявлению CagA гена НР). Результаты анализа представлены в таблице №4.

Таблица №4
Результаты исследования CagA гена методами Western-blot и ПЦР

Метод исследования	Группы больных и количество положительных результатов			
	ЯБДК n=63	ЯБЖ n=11	ХГ n=15	Больные без гастродуоденальной патологии, n=21
Антитела к CagA белку в Western-blot	56	10	8	4
CagA ген НР в ПЦР	50	9	8	3
Совпадение в 49 Western-blot и ПЦР	9	8	3	
	(87,5 %)	(90,0 %)	(100 %)	(75,0 %)

Данные анализа, приведенные в таблице, показывают высокую зависимость между спектром антител к НР в сыворотке крови (серотипом) больных инфицированных НР и генотипом бактерий определенным методом ПЦР в биоптатах.

Выводы:

1. CagA+ серотип и генотип НР чаще выявляется у больных язвенной болезнью, чем у пациентов с ХГ;
2. Между серотипом НР определяемым методом Western-blot (антитела к CagA белку НР) и генотипом НР, выявленным методом ПЦР (CagA ген НР) существует прямая зависимость, что позволяет использовать любой из этих методов для определения генотипа НР и прогноза течения НР-ассоциированных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аруин Л.И. Helicobacter pylori и предраковые изменения желудка // Диагностика и лечение заболеваний, ассоциированных с Helicobacter pylori / II Международный симпозиум «Современные проблемы физиологии и патологии пищеварения». - М., 1999. - С.33-37.
2. Гариб В.Ф., Харатьян Н.А., Баженов Л.Г. и др. Дополнительные возможности подхода Test and Treat при заболеваниях, ассоциированных с Helicobacter pylori // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2000. -Т. 10,- N2. - Приложение N10-С.12-15.
3. Григорьев П.Я., Яковенко А.В. Клиническая гастроэнтерология. - М.: Мед. информ. агенство, 1998. -645с.
4. Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л. Helicobacter pylori - от научных исследований к клинической практике // Диагностика и лечение. - 1996. -N1.- С.3-10.
5. Исаков В.А. Новые технологии в диагностике инфекции H. pylori // Диагностика и лечение заболеваний, ассоциированных с Helicobacter pylori /II Международный симпозиум «Современные проблемы физиологии и патологии пищеварения. - М., 1999. - С.12-15.

- 6.Пасечников В.Д., Чуков С.З., Правдина И.А. и др. Гистологический и микробиологический контроль эффективности метода «тройной терапии» хронического геликобактерного гастрита //Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 1998. - Т.8, N4. - С.28-31.
- 7.Пасечников В.Д., Чуков С.З., Правдина И.А. Использование Вестерн блотанализа в диагностике *H. pylori*-ассоциированной патологии гастродуоденальной зоны //Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. -2000. -Т. 10, N2.-С.63-65.
- 8.Atherton J.C., Peek R.M., Tham K.T. et al. Quantitate culture of *Helicobacter pylori* in gastric antrum: association of bacterial density with duodenal ulcer status and infection with CagA positive bacterial strains, and negative association with serum IgG levels //Am. J. Gastroenterol. - 1994.-Vol.89. - P.I 322.
- 9.Atherton J.C., Cao P., Peek R.M.J. et al. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific VacA types with cytotoxin production and peptic ulceration // J. Biol. Chem. -1995. -Vol.270. - P. 17771-17777.
- 10.Dixon M.F. Genta R., Yardley J. et al. Classification and grading of gastritis //Am. J. Surg. Pathology. - 1996. - Vol.20,N10. -P.1161-1181.
- 11.Figura N. *Helicobacter pylori* exotoxins and gastroduodenal diseases associated with cytotoxic strain infection //Aliment. Pharmacol. Ther. - 1996. - Vol. 10, Suppl.1. - 79-96.
- 12.Ganga-Zandzou P.S., Michaud L., Vincent P. et al.. Natural outcome of *Helicobacter pylori* infection in asymptomatic children: a two-year follow-up study. //Pediatrics. - 1999. -Vol.104. - P.216-221.
- 13.Lamouliatte H., Cayla R., Daskalopoulos G. Upper digestive tract endoscopy and rapid diagnosis of *Helicobacter pylori* infection //*Helicobacter pylori*: Techniques for clinical diagnosis and basic research /Ed. by Lee A, Megraud F. - Philadelphia:Saunders, 1996. - P.1-16.
- 14.Maaroos H.I., Vorobjova T., Sipponen P. et al. An 18-year follow-up stude of chronic gastritis and *Helicobacter pylori* association of CagA positivity with developmen of atrophy and activity of gastritis // Scand. J. . Gastroenterol. - 1999. - Vol.34.- P.864-869.
- 15.Miehlke S., Go M.F., Graham D.Y. et al. Serologic detection of *Helicobacter pylori* infection with cagA-positive strains in duodenal ulcer, gastric cancer, and asymptomatic gastritis // J. Gastroenterol. - 1998. - Vol.33, Suppl.1 0. - P.18-21.
- 16.Plebani M., Guariso G., Fogar P., et al. Effect of cagA status on the sensitivity of enzyme immunoassay in diagnosing *Helicobacter pylori*-infected children //*Helicobacter*. - 1999.-Vol.4, N4. - P.226-232
- 17.Purk S.M., Hong S.I., Jung H.Y. et al. Antigenic diversity and serotypes of *Helicobacter pylori* associated with peptic ulcer diseases // X EHPSG International Workshop: Abstracts-On-Disk, 1997.
- 18.Rokkas T., Ladas S., Liatsoset C. et al. Relationship of *helicobacter pylori* CagA status to gastric cell proliferation and apoptosis // Gut. - 1998. -V. 43.- Suppi. 2. - P.17.
- 19.Rudi J., Rudy A., Maiwald M. et al. Direct determination of *Helicobacter pylori* vacA genotypes and cagA gene in gastric biopsies and relationship to gastrointestinal diseases //Am. J. Gastroenterol. - 1999. - Vol.94, N6. -P.1525-1531.

УДК 615.596-002.892-08

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИСТЕМНОЙ ТЕРАПИИ ОНИХОМИКОЗОВ: ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И РЕЦИДИВЫ

А. Ю. Сергеев, О. Л. Иванов, Ю. В. Сергеев, В. Н. Ларионова, П. В. Каменных
Медицинский центр УД Президента Российской Федерации, Москва

Исследована и сопоставлена клиническая эффективность орунгала, ламизила, нитрофурала. Выявлено превосходство пульс-терапии «орунгалом», как дающий наименьший