

СОДЕРЖАНИЕ
журнала "БИОМЕДИЦИНА"
№ 3, 2003 год

Обзоры

М.К.Мамедов

3 На пути к единой концепции происхождения опухолей

А.А.Кадырова

12 Иммунная система: два механизма и одна цель

Оригинальные статьи

С.Р.Гиясбейли

17 Показатели иммунологического гомеостаза у онкологических больных с субклиническими нарушениями функции печени

И.А.Агаев, С.Н.Ахмедова

20 Факторы, влияющие на вертикальную передачу вируса гепатита С

Краткие сообщения

З.Н.Ибрагимов, Р.И.Таги-заде, А.А.Керимов

23 Серологические маркеры инфицирования ВГВ и ВГС в группах с высоким риском инфицирования в Нахчыванской Автономной Республике

Г.К.Алиева, Х.М.Умудов

25 Иммунологические и дерматоглифические показатели у больных инфекционно-аллергической бронхиальной астмой

И.А.Гараева

27 Резервные возможности миокарда левого желудочка при острых кишечных инфекциях у детей грудного возраста

История биомедицины

29 К 20-летию разработки полимеразной цепной реакции

Хроника

CONTENTS
"BIOMEDICINE" journal
№ 3, 2003

Reviews

M.Mamedov

3 On way to the united conception of the tumors development

A.Kadyrova

12 Immune system: two mechanisms and one aim

Original articles

S.Giyasbeili

17 Immunologic homeostasis parameters in malignant tumour patients with subclinic liver dysfunctions

I.Agayev, S.Akhmedova

20 Factors influencing to vertical transmission of hepatitis C virus

Brief communications

Z.Ibrahimov, R.Tagi-zade, A.Kerimov

23 Serologic markers of hepatitis B and C viruses infections among groups with high risk in Nakhtchivan Autonomous Republic

G.Aliyva, Kh.Umudov

25 Immunologic and dermatoglyphic parameters at patients with infectious-allergic bronchial asthma

I.A.Garayeva

27 Reserve possibility of left ventricular myocardium in infants with acute intestinal infections

History of biomedicine

29 To 20-th anniversary of carrying out of polimerase chain reaction

Chronicle

ОБЗОРЫ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

На пути к единой концепции происхождения опухолей

М. К. Мамедов

Онкологический научный центр,
г. Баку, Азербайджанская Республика

Мы не выскажем трюизм, говоря о том, что проблема злокачественных опухолей (ЗО) даже в начале XXI в. все еще остается одной из серьезных проблем здравоохранения и современной биомедицины. В то же время наука никогда не была так близка к разрешению загадки рака, как сегодня: ныне мы не только знаем о раке почти все, но и, в большинстве случаев, успешно лечим больных ЗО. Известны основные причины возникновения ЗО (23). Результаты молекулярных, биохимических и иммунологических исследований опухолевого роста еще 30 лет назад заложили основы доминирующей ныне молекулярно-генетической концепции (МГК) происхождения ЗО, основы которой излагаются во всех современных руководствах по онкологии (10, 19, 22).

Между тем, объясняя большинство процессов, лежащих в основе канцерогенеза, МГК лишь частично раскрывает механизмы глубокой перестройки жизнедеятельности клетки, после которой она обретает опухолевый фенотип, и не позволяет трактовать некоторые клинические и экспериментальные феномены (12, 20). Еще 15 лет назад ощущалась необходимость в более широкой и гибкой идеологической системе, способной с единых позиций интерпретировать разнородный фактический материал, отражающий разные аспекты опухолевого роста и связать воедино представления о различных типах канцерогенеза (9, 11).

За эти годы удалось сформулировать ряд положений, позволяющих уложить в более или менее, стройную "синтетическую" теорию канцерогенеза, и сегодня уже есть основания полагать, что создание подобной концепции, органически связывающей основные устоявшиеся положения МГК с теоретической трактовкой упомянутого выше материала, является вопросом нескольких лет (12). Учитывая, что указанная концепция в общем виде лишь формируется и пока остается известной лишь ограниченному кругу специалистов, в настоящем обзоре мы попытались, в несколько упрощенной и доступной всем

врачам форме, изложить основные положения такой "синтетической" концепции и показать ее возможности в трактовке процессов канцерогенеза на 4 различных уровнях.

ГЕННЫЙ УРОВЕНЬ. Первым в цепи событий, приводящих клетку к опухолевой трансформации, МГК считает изменение протоонкогенов (ПОГ) - генов нормальных клеток (известно более 100 ПОГ), кодирующих особые белки - протоонкобелки (ПОБ). В нормальной клетке ПОБ непосредственно участвуют в позитивном контроле пролиферации клеток и мембранно-клеточного транспорта регулирующих "сигналов".

Изменения ПОГ могут происходить в виде "превращения" ПОГ в функционирующие онкогены (ОГ) и выражаться в нарушении структуры ПОГ или в виде активации ПОГ, в основе которой лежит повышение функциональной активности ПОГ (8).

Изменение структуры ПОГ - результат мутации: для "превращения" ПОГ в ОГ порой достаточно замены лишь 1 из 4-5 тысяч нуклеотидов. Такие мутации могут быть вызваны любыми генотоксическими воздействиями (ионизирующие и ультрафиолетовое излучения, высокая температура, действие канцерогенов и др.) или являться следствием статистически обусловленных "ошибок" в процессе хранения и реализации генетической информации. Кроме того, повреждения клеточного генома и мутации в ПОГ могут быть результатом появления в клетке эндогенных генотоксических свободных радикалов (вследствие, например, хронического воспаления, активизации перекисного окисления липидов, вызванного перенапряжением энергопродуцирующих метаболических систем клетки под воздействием запредельных физических нагрузок и психоэмоциональных стрессов и т.д.) (26). Их может вызвать и интеграция генома вирусов с геномом клетки в случае, если вирусная ДНК внедряется в сайт самого ПОГ (17). И, наконец, интегрированный геном вируса может содержать "вирусный ОГ" и в клетку извне "попадает" готовый, функционально активный ОГ (2). Все описанные

процессы, ведущие к появлению в клетке функционирующих ОГ, в итоге приводят к синтезу кодируемых ими протеинов, называемых онкобелками (ОБ) (22, 27).

Повышение функциональной активности ПОГ и, соответственно, их экспрессии (синтеза ПОБ) может быть результатом либо гиперэкспрессии ПОГ (усиления экспрессии ПОГ под действием молекулярных промоторов - генов, "включающих" процесс синтеза белка на матрице структурных генов), либо амплификации ПОГ (появление в геноме их нескольких копий). В итоге, оба процесса приводят к появлению в клетке избыточных количеств ПОБ (12).

Гиперэкспрессия может быть связана с феноменом "вставки промотора", когда в непосредственной близости от ПОГ появляется сильный промотор, резко повышающий его экспрессию. Перенос промотора может быть связан либо с транслокацией фрагмента хромосомы, содержащего такой промотор, либо с транспозонами ("прыгающими" генами), способными при перемещении захватывать и переносить близлежащие участки генома в новые сайты генома, либо с привнесением в клеточный геном вирусного промотора при ретровирусной трансдукции (15, 17). Амплификация ПОГ может быть и следствием нарушений в процессах репликации и транскрипции ДНК (19).

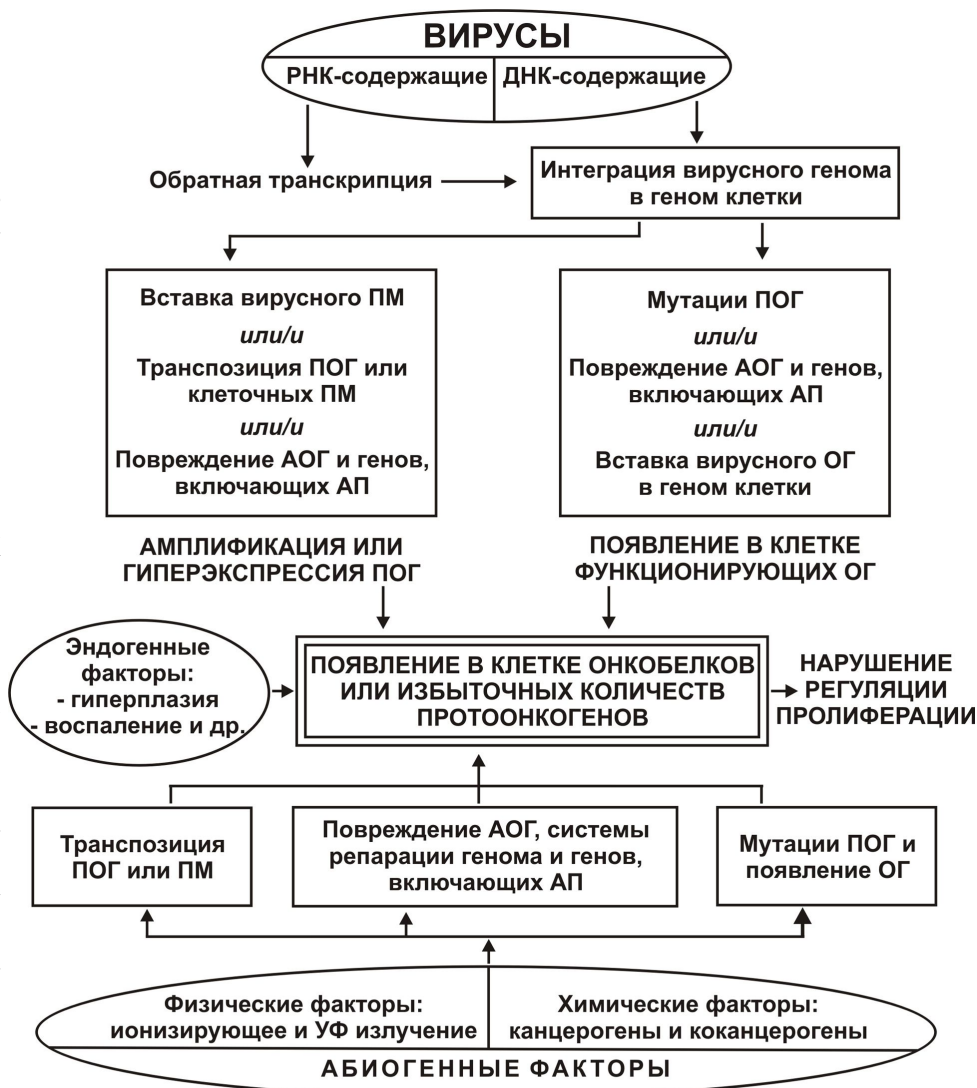
Изложенное демонстрирует, что появление в клетке ОГ и "сверхактивных" ПОГ, знаменующее завершение первого этапа канцерогенеза на геномном уровне, может быть обусловлено воздействием на клетку как биогенных, так и абиогенных факторов, показанных на рис. 1.

Завершая рассмотрение процессов, происходящих на геномном уровне, необходимо подчеркнуть, что ОБ и ПОБ характе-

ризуются большим структурным сходством (они могут отличаться даже по одной аминокислоте) и не имеют принципиальных функциональных различий. При этом, их возможные функции в клетке довольно разнообразны, хотя все они могут быть сведены к участию этих белков в регуляции клеточного размножения, которое мы рассмотрим ниже.

ГЕНОМНЫЙ УРОВЕНЬ. Для "полной" трансформации клетки экспрессии ОГ или гиперэкспрессии ПОГ, как правило, недостаточно, поскольку деление клеток с измененным геномом, обычно, блокируется системой "генетического надзора", сформированной другими, функционально скоординированными между собой, генами. Ее элементами являются: гены-супрессоры, гены, регулирующие репарацию поврежденного генома, и гены, контролирующие апоптоз (генетическую программу самоуничтожения

Рис. 1. Механизмы появления в клетке онкобелков, приводящих к нарушениям регуляции клеточного деления



УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ:

ОГ - онкогены, ПОГ - протоонкогены, АОГ - антионкогены (гены супрессоры), ПМ - промотор, АП - апоптоз

клетки) (1, 16). Эта система, выявив дефекты в геноме, устраняет их посредством механизма репарации, а при невозможности - останавливает деление клеток, включая апоптоз (АП) - генетически детерминированную программу самоуничтожения клетки (5). Ясно, что нарушения функций этой системы могут привести к беспрепятственному размножению (иммортиализации) клеток, геном которых содержит ОГ или "сверхактивные" ПОГ, и, в итоге, к появлению ЗО. Нечто подобное происходит при некоторых наследственных состояниях (пигментная ксеродерма и др.), когда неполноценность репарации приводит к возникновению различных ЗО (13, 22).

Важнейшее условие опухолевой трансформации - инактивация генов-супрессоров. Поскольку их "внесение" в клетки ЗО может восстановить и "нормализовать" ее фенотип, а их утрата или инактивация ведет к активации ПОГ и феноменологически, почти всегда, предшествует появлению ЗО, их называют "антионкогенами" (АОГ). Инактивация АОГ может вызываться их мутациями и связыванием с ингибиторами (например, при инфекции, вызванной онкогенным вирусом папилломы). Клетки с инактивированным АОГ отличаются выраженной нестабильностью генома и нарушением функции системы генетического надзора: это способствует не только трансформации клеток, но и прогрессии уже возникшей ЗО (13).

Не менее важным условием для трансформации являются и нарушения в регуляции АП, также приводящие к обретению клетками способности к безудержному делению и к патологическому изменению клеточного состава органов и тканей в виде сохранения в нем патологически измененных и, в том числе, потенциально опухолевых клеток (ОК). Сейчас опухолевый рост все чаще рассматривается как результат нарушения баланса между процессами пролиферации клеток и АП. Если в клетках "выключена" программа АП, то такие дефектные клетки способны "проскальзывать" через защитный барьер АП и размножаться, передавая дефектные геномы дочерним клеткам. Это создает опасность возникновения клона дефектных клеток (потенциально ОК) и возможность опухолевого роста (9, 27).

Итак, трансформация клетки является следствием, как минимум, трех событий, происходящих на уровне клеточного генома: 1) появления и экспрессии в клетке "сверхактивных" ПОГ или ОГ (клеточных или вирусных), 2) инактивации АОГ и 3) нарушения механизма репарации и нарушения регуляции АП. При этом к устойчивой трансформации они приводят только при условии их совмещения во времени (почти синхронное) в одной клетке (19).

КЛЕТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ. На этом уровне реализуются те механизмы, посредством которых

появившиеся в клетке ОБ и ПОБ приводят к опухолевой трансформации.

Считается, что ОБ и избыточные количества ПОБ оказывают на клетку одинаковое влияние, в итоге приводя к нарушению негативного контроля ее размножения со стороны организма. В силу этого трансформированная клетка обретает способность к неупорядоченному делению (иммортиализация), не согласованному с принципами клеточного сообщества, в составе которого она находилась до трансформации. Эти обстоятельства требуют рассмотрения механизмов регуляции деления нормальных клеток (НК), за раскрытие которых Л.Хартуэлл, П.Нерс и Т.Хант в 2001 г. были удостоены Нобелевской премии (14).

Сегодня можно условно выделить 2 механизма регуляции клеточного деления: внешний и внутренний (авторегуляция).

Внешняя регуляция деления НК осуществляется организмом и реализуется посредством гуморального механизма, при участии веществ, "переносящих" митогенные сигналы (МС), которыми НК побуждаются к делению. Этот механизм сходен с механизмом действия пептидных гормонов и основан на участии в этом процессе 3 элементов: клеток-продуцентов, вещества-переносчика МС и клеток-мишеней, обладающих специфической чувствительностью к носителю МС (7).

Роль веществ-переносчиков МС играют различные гормоны (ГОР) и, главное, особые белки, называемые "факторами роста" (ФР). НК в отсутствие внешнего МС выходит из клеточного цикла и остается вне его неопределенно долго (29).

Чувствительность НК к ФР и ГОР, а также ее степень определяется наличием на их поверхности и числом имеющихся на цитомембране особых белковых комплексов - "рецепторов ФР" (РФР) и "рецепторов ГОР" (РГ): их утрата приводит к утрате клеткой "чувствительности" к МС и, напротив, увеличение их ведет к патологическому увеличению такой "чувствительности" (25).

Рецепторы ФР и некоторых ГОР, будучи интегральной частью цитомембраны, способны специфически связывать ФР и ГОР и преобразовывать МС в метаболические импульсы, направленные к ядру клетки. При связывании ФР и ГОР с их рецепторами, последние обретают ферментативную активность и "включают" каскад эстафетных ферментативных реакций фосфорилирования белков, играющих роль внутриклеточных переносчиков МС к ядру (трансммиттеров) (30). В ответ на такой МС в ядре происходит "перепрограммирование" генома на начало деления клетки: синтезируются особые белки (факторы транскрипции) и активируются гены, ответственные за клеточное деление (включая ПОГ), и, как результат этих процессов, клетка вступает в митоз (12).

При этом, своеобразным "мостиком" между процессами, происходящими на уровнях генов, генома и клетки служат 2 обстоятельства: во-первых, все белки, входящие в состав ФР, РФР и РГ и внутриклеточных трансмиттеров МС, являются продуктами экспрессии клеточных генов и, в том числе, ПОГ и, во-вторых, наряду с ПОГ, отвечающими за стимуляцию митоза, функционируют АОГ, ответственные за продолжение клеточного деления. Вступление или не вступление клетки в митоз зависит от баланса активности экспрессии этих генов (24).

Описанные выше процессы обеспечивают организму возможность регулировать деление НК. В то же время, очевидно, что блокирование любого из этапов передачи МС может привести к нарушению регуляции деления в виде его замедления или даже полной остановки и, наоборот, активация любого из этих звеньев приводит к ускорению и стимуляции деления. Именно последний тип нарушения непосредственно связан с выходом клетки из-под контроля организма и, соответственно, с опухолевым ростом.

Внутренняя (локальная) регуляция клеточного деления связана с существованием НК в составе клеточной популяции и, также осуществляется гуморальным путем. Особенность его состоит в том, что он связан с продукцией ФР либо соседними клетками (паракринный тип регуляции) либо самой НК (аутокринный тип регуляции), когда одна и та же клетка является и продуцентом ФР, и его "мишенью". При первом типе одни клетки вырабатывают ФР, а другие, соседние, чувствительные к ним, определенным образом реагируют на эти ФР и, в частности, начинают делиться, т.е. "одни клетки регулируют деление других".

Второй тип обеспечивает клетку механизмом саморегуляции ее деления. Подобная "авторегуляцию" функционирует, в основном, лишь на этапе раннего эмбриогенеза. В физиологических условиях локальная регуляция деления НК выступает лишь как один из механизмов, с помощью которого организм осуществляет внешнюю регуляцию пролиферации НК (29).

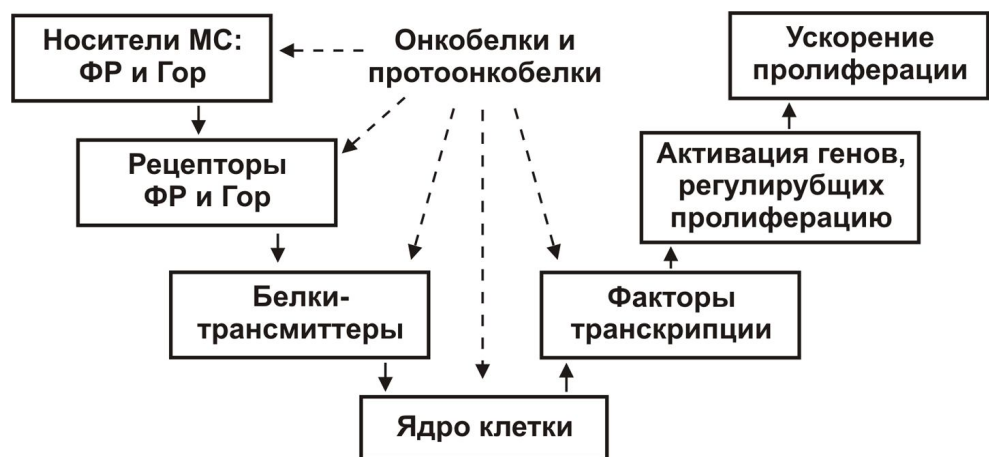
Переход НК от покоя к делению инициируется ФР и гормонами: для этого необходима определенная концентрация ФР и гормонов во внеклеточной жидкости. Напротив, ОК, побуждаемые к делению внутренними сти-

мулами, способны к неограниченной пролиферации при крайне малом содержании ФР во внеклеточной жидкости. А поскольку межклеточные взаимодействия, интегрирующие клетки для реализации нормальной работы тканей и органов как эффекторов функций, во многом осуществляются через регуляторные влияния ФР, независимость деления ОК от влияния ФР, находящихся во внеклеточном пространстве, лишает ОК свойств элемента ткани или органа.

Иными словами, независимость размножения ОК от ФР, вероятно, и есть та самая основа, на которой возникают ЗО. С этих позиций, опухолевый рост представляется типовым патологическим процессом дискоординации и, даже, дезинтеграции системы и восприятия клетками локальных, регионарных и отдаленных митогенных сигналов, когда автономные клеточные элементы утрачивают качества структурнофункциональных единиц ткани и всего организма (22, 28).

Теоретически независимость пролиферации ОК от ФР (и гормонов) может сформироваться в 5 основных ситуациях, связанных с теми функциями, которые выполняют ОБ и/или ПОБ. Это становится возможным: 1) если они играют роль ФР, автономно, по аутокринному типу, побуждающими клетку к делению, она, перманентно образуя ФР, сама стимулирует свое собственное деление и становится полностью независимой от внешних МС; 2) если они играют роль РФР, то это ведет к повышению содержания РФР на поверхности ОК и, значит, повышают их чувствительность к действию на нее ФР, даже при их нормальном уровне во внеклеточной жидкости; 3) если они выполняют функцию белков, обеспечивающих передачу МС от РФР к ядру, то их постоянное присутствие в цитоплазме приводит к "хроническому" поступлению в ядро "ложных" МС с ее уровня, имитируя непрерывную

Рис. 2. Основные "мишени" действия ОБ и ПОБ в цепи внутриклеточной передачи митогенного сигнала



УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ:
МС - митогенные "сигналы"; Гор - гормоны; ФР - факторы роста

импульсацию от внешнего "фантомного" источника. Такое самоподдерживающееся возбуждение, в итоге, выводит клетку из-под регуляторного влияния организма; 4) если они, играя роль факторов транскрипции, инициируют пролиферацию безо всякого внешнего МС (независимо от ФР), поступающего извне и 5) если они блокируют действие ингибиторов передачи МС (типа бета-интерферона, или фосфолипазы). Нетрудно видеть, что данный механизм по конечному результату идентичен первому из рассмотренных выше (12). Эти механизмы схематически показаны на рис. 2.

Очевидно, что все эти механизмы сводятся к развитию постоянного митогенного "самовозбуждения" клетки, приводящего к ее независимости от регуляторных сигналов организма и ее нерегулируемому размножению. Экспрессия ОГ и появление ОБ, или гиперэкспрессия ПОГ и синтез необычно высоких количеств ПОБ, имеющих отношение к переносу МС, так или иначе, ведут к тому, что одно или несколько звеньев в цепи передачи МС (от ФР до факторов транскрипции) спонтанно становятся сверхактивными. С этого звена по направлению к ядру поступают имитационные МС, которые и побуждают клетку к ускоренной пролиферации.

Описанные выше процессы на геномном, геномном и клеточном уровнях объясняют как формируется нарушение контроля пролиферации клеток и относятся лишь к делящимся клеткам и к клеткам, находящимся в стадии покоя, но способным вернуться в цикл деления; клетки, находящиеся в стадии окончательной дифференцировки и полностью утратившие способность делиться, трансформироваться не могут, хотя бы теоретически.

ТКАНЕВОЙ УРОВЕНЬ. Процессы, происходящие на этом уровне, долгое время не привлекали к себе должного внимания, и потому их реальное значение в канцерогенезе оставалось малоизученным (20).

Это, во-первых, побудило нас обсудить их более подробно и, во-вторых, предпослать этому обсуждению краткую информацию о фактах, высветивших ограниченность МГК и ее способность с единых позиций объяснить сущность процессов, протекающих на всех уровнях организации, и механизмы разных типов канцерогенеза.

Кратко перечислим те обстоятельства, которые не находят удовлетворительного объяснения с позиций МГК.

Рассматривая индуцированную мутацию как исходный рубеж всех последующих процессов канцерогенеза, приходится признать обязательность наличия у всех канцерогенов генотоксических (мутативных) свойств. Однако, подходя к этому вопросу достаточно строго, свести все

известные канцерогенные факторы к генотоксическому действию не удастся. Это, в первую очередь, относится к гормональному канцерогенезу: гормоны, выделяясь НК и действуя только "через" свои рецепторы, не обладают генотоксическими свойствами. Однако, известно, что длительно вводя гормоны, можно индуцировать появление ЗО. Выдвигаемая же для объяснения этого явления гипотеза о "непрямом" генотоксическом действии гормонов, пытающаяся уложить их в рамки МГК, несет на себе печать некоей спекулятивности. Генотоксический фактор не обнаруживается и при "механическом" канцерогенезе, когда имплантация в ткани металлической или стеклянной пластинки, в итоге, приводит к появлению ЗО (11).

Помимо этого, в экспериментах неоднократно показано, что добиться появления ЗО удастся и путем воздействия на НК высокими концентрациями ФР, которые отнюдь не генотоксичны и действуют, как и гормоны, только через мембранные РФР.

Касаясь же химических канцерогенов, так же следует подчеркнуть, что не у всех из них зарегистрирована генотоксическая активность - известна большая группа, так называемых, промоторов, которым вообще не свойственна такая активность.

И, наконец, далеко не все вирусы, вызывающие ЗО, обладают генотоксичностью или содержат ОГ. К примеру, до сих пор не ясно, посредством какого механизма возникают ЗО печени, несомненно связанные с хронической инфекцией, обусловленной вирусами гепатита В и, особенно, гепатита С (последний, несмотря на принадлежность к "неонкогенному" семейству флавивирусов, считается, едва ли не самой главной, причиной развития гепатомы) (2).

С другой стороны, происшедшая мутация означает необратимое изменение генов и фиксацию приобретенных свойств у дочерних клеток. Поскольку важным свойством ОК является атипизм, обусловленный нарушением дифференцировки, можно было бы полагать, что их фенотип не поддается реверсии, включая необратимость блокировки дифференцировки. Но и этот тезис опровергается результатами неоднократно воспроизведенных экспериментов. Во-первых, часть клеток в самой ЗО может проходить дифференцировку до терминальной стадии, т.е. при этом признаки злокачественности и, во-вторых, при воздействии на ОК индукторов дифференцировки они могут дифференцироваться и восстанавливать фенотип НК ("нормализация" ОК), утрачивая, при этом и многие другие признаки злокачественности (21).

При лейкозах в разных, пространственно разобщенных, отделах костного мозга аутохтонно и синхронно возникают почти идентичные по

основным свойствам (включая, иммунофенотип) лейкозные клетки, что может быть результатом только одновременных мутаций в одних и тех же "точках" генома, что противоречит случайной природе мутаций, как таковых (10). К тому же, известно, что при парентеральном введении определенных канцерогенов с высокой частотой возникают одни и те же ЗО, что также ставит под сомнение центральную роль мутаций, как первопричины возникновения ЗО.

Противоречия МГК с некоторыми фактами на этом не исчерпываются. Еще одно из них состоит в том, что ОГ и активированные ПОГ имеются и в пролиферирующих стволовых клетках (СК). Неоднократно показано, что при введении в другой организм размножение СК, без какого либо канцерогенного воздействия, приобретает инвазивный характер и ведет к возникновению ЗО. При этом, признаки злокачественности, характерные для ОК (наличие ОГ и сверхактивных ПОГ, аутокринная стимуляция митоза, иммортализация, клоногенность и др.), могут проявиться и у нормальных СК (6). Значит, приходится признать, что различие между ОК и СК не является принципиальным, и носит скорее количественный характер. Эти факты в корне меняют представление о сущности трансформации и не позволяют считать МГК универсальной концепцией, раскрывающей все возможные причины и механизмы возникновения ЗО.

В то же время, отмеченные выше факты наводят более убедительную трактовку в рамках концепции тканевого гомеостаза (КТГ), развитой за последние 30 лет на основе "старых" эпигенетических взглядов на опухолевый рост, высказанных еще в начале XX в. Их сторонники, апеллируя к теории "раздражения" Вирхова, приписывали ведущую роль в возникновении ЗО ускоренной компенсаторной пролиферации, протекающей на фоне воспаления или при регенерации (20).

Статус самостоятельной теории, в форме КТГ, эти взгляды обрели позже, хотя основным в ней оставалось представление об интенсивной пролиферации, как об основной причине возникновения ЗО.

Основное отличие МГК от КТГ состоит в том, что МГК весь процесс канцерогенеза пытается объяснить только на генном, геномном и клеточном уровнях, не учитывая факт существования клетки в составе ткани, тогда как КТГ изначально рассматривает канцерогенез с позиции тканевого уровня, трактуя изменение самих клеток лишь с этих позиций. Согласно КТГ, опухолевый рост является результатом нарушения "тканевого гомеостаза" (ТГ). Именно поэтому обсуждению взглядов на канцерогенез с позиций КТГ мы начинаем с рассмотрения сущности самого ТГ.

Ткань - относительно обособленное струк-

турно-функциональное сообщество клеток, способное, по принципу отрицательной обратной связи, регулировать свой клеточный состав в соответствии с изменением характера выполняемых ею функций. Это означает существование самостоятельного и действующего на клеточно-тканевом уровне механизма поддержания "тканевого гомеостаза" (ТГ). Любая ткань, в каждый момент времени представлена 3 основными популяциями НК: 1) недифференцированными СК, обладающими высокой пролиферативной активностью, не начавшими свою дифференцировку, 2) низкодифференцированными клоногенными клетками-предшественниками (КК), сохранившими пролиферативную активность, но не завершившими дифференцировку и 3) дифференцированными "зрелыми" клетками (ДК). При биологически обусловленной необходимости СК начинают пролиферировать и, частично дифференцируясь, превращаются в КК, которые, завершив пролиферацию и пройдя дифференцировку, "превращаются" в ДК. Соотношение между этими популяциями в разных тканях различно (доля СК велика в тканях, отличающихся быстрым обновлением клеточного состава) (20).

ТГ состоит в самоподдержании тканью постоянства соотношения между этими популяциями клеток, осуществляемом по принципу обратной отрицательной связи, реализаторами которой являются кейлоны - белки, вырабатываемые только ДК и обладающие тканеспецифической способностью кратковременно подавлять деление клоногенных клеток и, особенно, СК. Степень торможения пролиферации прямо зависит от концентрации кейлона, которая, в итоге, определяется численностью ДК. Очевидно, что увеличение доли ДК в конкретном участке ткани приводит к увеличению продукции кейлонов и тормозит деление "молодых" клеток. Напротив, при уменьшении доли ДК снижается и уровень кейлонов, что приводит к стимуляции пролиферации СК и КК. Посредством этого механизма кейлоны выполняют функцию основного регулятора пролиферации, тем самым участвуя в поддержании ТГ, а именно - определенного баланса между пролиферацией и дифференцировкой. Такой баланс обеспечивает упорядоченное течение процессов образования и роста новых тканей и восполнения отмерших клеток новыми, а после достижения ими конечной стадии своего развития держит их размножение под контролем (3).

Рассмотрим важнейшие положения КТГ, исходя из посылки о том, что феноменологически ЗО является патологически изменившимся участком ткани, сформированным клетками, обладающими наследственно закрепленной способностью к неограниченной и неконтролируемой пролиферации (автономией размножения) и утратившими нормальную дифференцировку (об-

ладающими атипизмом).

КТГ, как и классическая эпигенетическая концепция, не рассматривает повреждения генома канцерогенами как единственную причину возникновения ЗО: в качестве потенциальных факторов их появления она считала многие, если не все, воздействия, в итоге приводящие к усилению пролиферации клеток.

Согласно современной трактовке КТГ, появление ЗО может быть результатом воздействия на НК факторов, которые, повреждая клетки, тем самым стимулируют интенсивную (компенсаторную) пролиферацию соседних НК. В свою очередь, длительная и интенсивная пролиферация, лимитируя время, "отведенное" на дифференцировку клеток, ведет к "омоложению" (эмбрионализации) ткани за счет увеличения доли быстро размножающихся "незрелых" СК и снижения доли ДК. Первые, не успев завершить дифференцировку (включаящую и продукцию рецепторов ФР регулирующих гормонов), становятся менее чувствительными к внешним регуляторным сигналам и пролиферируют еще быстрее. Уменьшение же ДК, продуцирующих кейлоны, приводит к ослаблению их тормозящего влияния на пролиферацию. В какой то момент происходит полная блокировка дифференцировки быстро пролиферирующих СК, что приводит к резкому снижению количества РФР на их поверхности и утрате ими чувствительности к действию внешних регуляторов. Такие СК обретают способность к неконтролируемой пролиферации, сохраняя фенотип СК, мало отличимых от ОК. С позиций КТГ это и знаменует начало опухолевого роста. А поскольку основным объектом пролиферации являются СГ и КК, они, быстро размножаясь, сменяют ДК: происходит репопуляция ткани "молодыми" и "незрелыми" клетками и изменение соотношения ДК и СК в сторону преобладания последних. В итоге развивается прогрессирующая эмбрионализация ткани - основной фактор, способствующий возникновению ЗО. Существенно, что обретение НК опухолевого фенотипа в рамках КТГ рассматривается как результат не де-дифференцировки, а ее блокировки (20).

Иначе говоря, КТГ рассматривает нарушение ТГ как конечный результат различных канцерогенных факторов, который сводится к 2 эффектам: либо стимуляция пролиферации, либо гибель НК (она же стимулирует пролиферацию соседних клеток). При этом фактором, инициирующим нарушение ТГ, КТГ считает интенсивную и длительную пролиферацию, а ее конечным результатом - появление ЗО.

Другая важная особенность КТГ состоит в том, она считает трансформацию обратимой: изменение ТГ может происходить не только в одну сторону - прогрессия изменений от НК к ОК (в МГК это однонаправленный процесс), но и в об-

ратную - регрессия от ОК к НК. Признавая обратимость изменений ТГ, приведших к появлению ЗО, она смогла объяснить целый ряд фактов, которые, в силу необъяснимости в рамках МГК, прежде часто игнорировались. Так, она дает объяснение трем основным вариантам развития опухолевого роста: прогрессии, регрессии и стабилизации, т.е. "доброкачественному состоянию" возникшей ЗО и, не отрицая возможности обратного развития (регрессии) ЗО, выгодно отличается от МГК, порой не способной объяснить природу сложных клинических случаев, когда опухоль ведет себя "непонятным образом".

Канцерогенность в КТГ трактуется существенно шире, чем в МГК, и рассматривается как способность вызывать опухоли вне зависимости от генотоксичности. Поэтому канцерогенное действие приписывается и промоторам - веществам, стимулирующим пролиферацию. При этом канцерогенность того или иного фактора определяется не особенностью его физико-химических свойств, а характером и режимом воздействия на ТГ: дозой, частотой, длительностью.

Считается, что генотоксический эффект является вторичным и проявляется опосредованно через промоторный, проявляющийся в ускорении гибели клеток и индукции компенсаторной пролиферации СК. Именно подобным действием характеризуются гормоны, что позволяет объяснить механизмы гормонального канцерогенеза.

В свою очередь, интенсивность пролиферации определяется "канцерогенной нагрузкой": чем длительнее сохраняется повышенный режим пролиферации, тем быстрее структура ткани все больше приближается к структуре ЗО. Если она не столь интенсивна и кратковременна, то ТГ сможет компенсировать его и ЗО не разовьется. При ее большей интенсивности развивается доброкачественная опухоль (ДО) и процесс прогрессии опухоли стабилизируется. Если же она еще сильнее, то ТГ серьезно нарушится и возникнет ЗО.

Итак, КТГ трактует общий механизм развития ЗО и ДО, которые она рассматривает как последовательные стадии опухолевого роста, а все канцерогенные факторы - как дезинтеграторы ТГ, приводящие к выходу потенциально ОК (СГ и КК) из-под контроля ТГ.

При канцерогенезе выявляются последствия прогрессирующей эмбрионализации, ведущей к репопуляции ткани "незрелыми" клетками - изменения спектра ферментов, характерного состава поверхностных молекул на мембране и изменения многих других свойств клеток.

Одним из частных проявлений этой закономерности является изменение характера энергетического обмена и "переход" ОК от дыхатель-

ного типа катаболизма к, преимущественно, гликолитическому типу энергетического обмена (эффект Варбурга): дыхательные ферменты синтезируются только "зрелыми" клетками, а для низкодифференцированных ОК более характерны анаэробные ферменты (20).

Другим ее проявлением становится изменение состава адгезивных и рецепторных мембранных молекулы: последние синтезируются ДК, а при репопуляции они заменяются на "незрелые", а их число на мембранах постепенно снижается, вплоть до полного исчезновения, по меньшей мере, некоторых из них.

Однако, стоя на позициях КТГ, приходится пересмотреть некоторые положения теории прогрессии ЗО Фулдса и, в частности, правило независимости опухолевой прогрессии: многообразные признаки опухолевой прогрессии она сводит к общему вектору изменений и закономерному искажению свойств ОК, подчиненному прогрессирующей эмбрионализации ткани. Согласно ей, в основе изменения отдельных признаков ЗО при их прогрессии лежит происходящая в процессе эмбрионализации смена ДК на все менее дифференцированные. Более того, КТГ входит в противоречие и с тем положением "иммунологической концепции" ЗО Ф.Бернета, которое постулирует мутационный генез трансформации, в ходе которой возникают "чуждые" для организма ОК, которые путем эволюционной селекции создают "новые породы" клеток.

В силу этих и ряда других обстоятельств КТГ, сама по себе, также не дала исчерпывающего объяснения канцерогенезу. В то же время, ее интеграция с важнейшими положениями МГК, позволили сделать реальный шаг к созданию некой "общей" молекулярно-клеточно-тканевой концепции (МКТК) происхождения ЗО, более полно отвечающей требованиям современного этапа развития онкологии.

Отвечая на вопросы о том, как и на какой же основе МГК и КТГ могут интегрироваться в МКТК как единое воззрение, надо, в первую очередь, отметить, что еще 20 лет назад было показано, что необратимые изменения генома не препятствуют нормализации ОК (18). Это означает, что необратимые генетические нарушения развиваются параллельно с развитием опухолевого роста, и позволяет с новых позиций переосмыслить трактовку целого ряда известных научных и клинических фактов.

Поэтому, новая, интегрирующая МГК и КТГ концепция исходит из того, что определяющими условиями, способствующими появлению ЗО, являются: 1) появление в геноме клеток ОГ или сверхактивных ПОГ и, соответственно, появление ОБ и увеличение количества ПОБ в клетке; 2) снижение стабильности генома НК и 3) нарушение ТГ.

Немаловажным результатом генотоксических воздействий МКТК считает снижение стабильности генома: в условиях высокой частоты деления НК происходит ускорение процессов репликации и транскрипции ДНК и повышается вероятность появления молекулярных "ошибок". Это же ведет к сокращению времени, "отпущенного" для работы системы "генетического надзора" и восстановления повреждений ДНК. В результате повышается частота летальных мутаций и мутаций, приводящих к усилению митотической активности. Этим объясняется и то, почему растущий организм более предрасположен к индукции опухолей под действием канцерогенных агентов.

Понятно, что в условиях канцерогенных воздействий вероятность "сбоев" в работе этих систем повышается: учащаются мутации, приводящие к усилению митотической активности и летальных мутаций (усиление гибели клеток влияет на режим пролиферации). При этом, мутации, снижающие митотическую активность, на уровне популяции клеток внешне не проявляются, феноменологически приравняваясь к выходу клетки из митотического цикла.

Нарушения же ТГ МКТК рассматривает как унифицирующий конечный результат действия разнообразных канцерогенных, коканцерогенных или иных факторов, причем, как абиогенных, так и биогенных. Этот результат, в итоге, сводится к двум эффектам: канцерогены стимулируют пролиферацию, либо вызывают гибель клеток, которая, в свою очередь, также стимулирует и пролиферацию. Иными словами, фактором, инициирующим нарушение ТГ, является интенсивная и длительная пролиферация.

При такой интерпретации становится очевидным, что между МГК и КТГ нет принципиального противоречия и, напротив, выявляется, что между ними существует определенная преемственная взаимодополняемость: если первая описывает процессы на молекулярно-клеточном уровне, то последняя - на тканевом.

МКТК позволяет переосмыслить соотношение ролей генотоксического и промоторного эффекта канцерогенного действия и показывает, что канцерогенный эффект генотоксических факторов проявляется не только прямо, как соответствующее воздействие на геном, но и опосредованно, через промоторное влияние, т.е. за счет усиления гибели клеток в результате нарушения генома, что вызывает компенсаторную пролиферацию, и далее процесс развивается по схеме, описываемой КТГ.

Таким образом, согласно новой концепции канцерогенные факторы одновременно воздействуют на две мишени: не только на геном, но и на ТГ, причем, воздействие на ТГ рассматривается таким же значимым, как и воздействие на

геном.

В этом случае, опухолевая трансформация клетки является не только прямым следствием активации ПОГ или появления ОГ, но и результатом выхода обладающих активированными ПОГ и/или ОГ СК из-под контроля ТГ. Действительно, хорошо известно, что совместное действие на организм канцерогена и коканцерогена (промотора) значительно ускоряет возникновение ЗО. В этом случае, согласно МКТК, канцероген воздействует, преимущественно, на геном (вызывая не только изменения в ПОГ, но и дестабилизируя его в целом) и, частично, на ТГ, а действие промотора, в основном, направлено на ТГ.

Генетические же нарушения, ускоряя гибель клеток, влияют на режим пролиферации и, тем самым, также усиливают нарушения ТГ. Значит, все канцерогенные факторы действуют как дезинтеграторы ТГ, что и ведет к выходу потенциально ОК (СГ и КК) из-под контроля ТГ.

И, наконец, разработка МКТК имеет не только теоретическое значение - уже сегодня четко просматривается и ее важный клинический аспект: обратимость трансформации позволяет направленно искать способы лечения ЗО не только путем уничтожения возникших ОК, но и "нормализуя" их путем коррекции нарушений ТГ и индукции дифференцировки. Появление этой теоретической базы позволило легализовать уже имевшиеся многочисленные данные, указывающие на принципиальную возможность использования такого подхода, но игнорируемые из-за противоречий с господствующей МГК. Сейчас это направление выглядит достаточно привлекательным, тем более, что в его развитии уже достигнуты определенные успехи (например, разработка метода "гистотропной гормонотерапии", основанного на снижении пролиферативной нагрузки на ТГ в определенных тканях) (4). Разумеется, что реальную ценность этих подходов в клинической практике покажет время, но не исключено что данный подход позволит принципиально изменить стратегию борьбы со ЗО и, во всяком случае, облегчит поиск эффективных средств их лечения.

В заключение отметим, что сочетающаяся в себе основные положения МГК и КТГ молекулярно-клеточно-тканевая концепция пока остается лишь рабочей доктриной, позволяющей сформировать комплексный взгляд на канцерогенез как совокупность взаимосвязанных процессов, одновременно и/или последовательно протекающих на нескольких соподчиненных между собой уровнях. И, несмотря на возможность дополне-

ния ее положений, и даже ее полного пересмотра в будущем, сегодня она, несомненно, является еще одним шагом на пути к единой концепции происхождения ЗО.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев А.А., Абилов З.К. Молекулярные механизмы защиты генома. Баку: Элм, 1999;
2. Алиев Д.А., Мамедов М.К., Гудратов Н.О. Онкологические аспекты вирусного гепатита В. Баку: Знание, 1993;
3. Балаж А. Биология опухолей. М.: Мир, 1987;
4. Белоусова А.К. Молекулярно-биологические подходы к терапии опухолей. М., 1993;
5. Белушкина Н.Н., Москалева Е.Ю. - В кн.: Биохимические основы патологических процессов. Под ред. Е.С.Северина. М.: Медицина, 2000, с.31-49;
6. Бутенко З.А. Стволовые клетки и опухолевый рост. Киев: Наукова думка, 1985;
7. Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е., Трапезников Н.Н. - Вопр. биол. мед.фарм. химии, 1996 N.2, с.3-11;
8. Гудратов Н.О., Мамедов М.К. Введение в экспериментальную онкологию. Баку: Элм, 1995;
9. Долгих В.Т. Опухолевый рост. Н.Новгород: Изд. НГМА, 2001;
10. Киселев Ф.Л., Павлиш О.А., Татосян А.Г. Молекулярные основы канцерогенеза у человека. М.: Медицина, 1990;
11. Мамедов М.К. - Азерб.Ж.онкологии, 2000, N.1-2, с.94-104;
12. Мамедов М.К. - Там же, 2001, N.1, с.58-69;
13. Мамедов М.К. - Там же, 2001, N.2, с.99-108.
14. Мамедов М.К. - Vita Med.J., 2001, N.3-4, с.4-8;
15. Мамедов М.К., Гудратов Н.О. Вирусы, вирусные инфекции и злокачественные опухоли, Баку: Билик, 1992;
16. Мамедов М.К., Дадашева А.Э.- Здоровье, 2001, N.6, с.6-10;
17. Мамедова С.И. - Биомедицина, 2003, N.2, с.31-36;
18. Сакс Л.- В мире науки, 1986, N.3, с.14-24;
19. Силаева С.А. - В кн.: Биохимические основы патологических процессов. Под ред. Е.С.Северина. М.: Медицина, 2000, с.51-74;
20. Черезов А.Е. Общая теория рака. М.: Изд.МГУ, 1997;
21. Швембергер И.Н.Нормализация опухолевых клеток. Л.: Наука, 1987;
22. Якубовская Р.И. - Российск.онкологический Ж., 2000, N.6, с.42-50;
23. Aliyev J., Mamedov M., Mardany F. - In: Abst. 6-th Int. Congr.: Energy, ecology, economy. Baku, 2002, p.370-372;
24. Bouvchard C., Staller P., Eilers M. - Trends in biochemical studies, 1998, v.8, p.202-206;
25. Comoglio P., Voccaccio C. - In: Oxford textbook of oncology. Eds. R.Souhami et al. NY: Oxford Univ.Press Inc., 2002, p.49-68;
26. Dang C., Semenza G. - Trends in biochemical studies, 1999, v.24, p.68-72;
27. King R. Cancer biology. N.Y.: Longman, 1996;
28. Murray R., Granner D., Mayes P. Rodwell V. - In: 29. Norbury C. - In: Oxford textbook of oncology. Eds. R.Souhami et al. NY: Oxford Univ.Press Inc., 2002, p.68-74;
30. Porter A., Vaillancourt R. - Oncogene, 1998, v.17, p.1342-1364.

SUMMARY

On way to the united conception of the tumors development

M.Mamedov

The review reflected some data concerning two different points of views to mechanisms of carcinogenesis: opinions based on molecular-genetical and cellular-tissue conceptions. It was emphasised the absense united conception limited complete understanding all existing clinical and experimental material.

The author presents the possibility of creating the modern united molecular-cellular-tissue conception of carcinogenesis which is able to take in consideration all possible mechanisms of tumours development.

Поступила 14.05.2003

Иммунная система: два механизма и одна цель

А. А. Кадырова

Азербайджанский медицинский университет,
г. Баку, Азербайджанская Республика

Филогенетическое развитие систем поддержания структурного гомеостаза, пройдя ступени возникновения современной формы генетического кода (у прокариотов) и формирования механизмов защиты стабильности генома у многоклеточных беспозвоночных, в итоге, привело к появлению у позвоночных иммунной системы (4, 8, 24).

Биологическая целесообразность появления иммунной системы была обусловлена тем, что организм, состоящий из десятков и сотен триллионов клеток, в условиях, когда частота спонтанных мутаций, не предотвращенных упомянутыми системами генетического "надзора", достигает 1:1000000, не может существовать, а тем более, развиваться без специализированной системы распознавания и элиминации мутировавших соматических клеток и, в том числе, неопластически трансформированных клеток (11, 14).

Учитывая, что мутации фенотипически выражаются в изменении первичной структуры кодируемых мутированными генами белков, то и иммунная система первоначально развилась как система, преимущественно белкового гомеостаза, реализуемого на основе распознавания и элиминации именно антигенно измененных белков, а значит, и содержащих эти белки клеток (20, 22).

Паралельно с этим природа возложила на иммунную систему и вторую функцию: распознавать и уничтожать проникшие извне в организм чужеродные по белковому составу субстраты (включая вирусы, на стадии вирионов) и клетки (21).

Претерпевшие мутации клетки организма и разнообразные клеточные биопатогены (бактерии, грибы и простейшие) защищены белоксодержащими оболочками, и их генетический материал не приходит в непосредственное взаимодействие с геномом организма. Поэтому для их распознавания, осуществляемого через их белки, иммунной системы как таковой оказалось вполне достаточным.

Иная ситуация складывалась с вирусами, которые основную часть своего онтогенеза существуют в виде хотя и "голых", но функционально активных нуклеиновых кислот (НК) (16). На этом этапе для поддержания структурного гомеостаза иммунная система, обеспечивающая генети-

ческое постоянство клеточных популяций только опосредованно, через свойственный ей механизм поддержания "белкового гомеостаза", оказывалась не способной распознавать, в первую очередь, "чужие" НК и, прежде всего, НК вирусов.

Между тем, значимость необходимости своевременно распознавать и дезинтегрировать вирусные НК чрезвычайно высока в силу, по крайней мере, двух обстоятельств. Во-первых, вирусы убиквитарны и широко распространены в органическом мире, а их реальное биологическое значение, по всей вероятности, еще предстоит осмыслить: согласно существующему мнению до сих пор идентифицировано менее 1% всех существующих в природе видов вирусов. И, во-вторых, часть вирусов патогенна для млекопитающих, а "экспансия" ими организма способна приводить к развитию целого ряда тяжелых и, в том числе, смертельных заболеваний (8).

Однако, НК отличаются от белков несравненно большей изотропностью своей структуры и отсутствием достаточно крупных надмолекулярных структур, способных выполнять роль антигенных детерминант. Поэтому иммунная система практически лишена возможности различать "свои" и "чужие" НК (23). В связи с чем, для выполнения этой функции, имеющей важное защитное значение, нужен был специализированный механизм, способный обеспечить "нуклеиновый гомеостаз" путем прямого (а не опосредованно, через белки) распознавания и немедленной дезинтеграции тех НК, которые содержат в себе чужеродную для организма генетическую информацию и таят в себе потенциальную угрозу для гомеостаза организма (14).

Основой такого механизма стали интерфероны (ИФН) - группа полифункциональных белков, аналогичных по действию цитокинам и передающих информационные импульсы от клеток-продуцентов к ядрам воспринимающих эти сигналы клеток (клетки-мишени) (1). ИФН являются непосредственными участниками внутриклеточной регуляции, а также, процессов межклеточной коммуникации (5, 19).

Кроме того ИФН выполняют ряд важных защитных функций, в комплексе формирующих одно из звеньев естественной резистентности организма (21, 27).

Под их действием в клетках-мишенях происходит целенаправленное изменение функциональной активности определенных генов и перестройка жизнедеятельности этих клеток. Благодаря такой перестройке и, в частности, сопровождающейся индукцией синтеза в клетках ряда ферментов, клетки и организм в целом обретают определенную степень устойчивости по отношению как к собственным клеткам, обладающим патологическими свойствами (малигнизированные клетки) или инфицированным вирусами (или другими биопатогенами), так и к любым чужеродным клеткам или вирусам. Последняя группа свойств иногда объединяется под общей рубрикой "антиинвазивные свойства" ИФН (2).

Исключительно важное биомедицинское значение ИФН нашло отражение в том, что в литературе стали появляться такие термины, как "интерфероновый статус" и даже "система интерферонов" (ИФН-система) (6). Однако, последний термин отдельные авторы стали трактовать в буквальном безоговорочном смысле, полагая при этом, что клетки-продуценты ИФН и их клетки-мишени формируют самостоятельную функциональную систему, проводя аналогию между ней и другими функциональными системами организма. Помимо этого, они постулируют и существование принципиального отличия ИФН-системы от иммунной системы, которое рассматривается как основание, достаточное для их сегрегации друг от друга, на правах равноправно сосуществующих в организме.

Сторонники такого взгляда апеллируют, главным образом, к тому, что механизмы рецепции, присущие элементам этой системы и эффекторные реакции, в основном сводящиеся к индуцированной дезорганизации и функциональной инактивации "чужих" НК, существенно отличны от таковых в иммунной системе. В то же время, приводя довод о том, что ИФН-система не имеет специализированных органов или даже специализированных клеток, ответственных за функционирование этой системы, они упускают из виду основное положение ныне никем не отрицаемого учения о специализированных функциональных системах, согласно которому важнейшим и, даже, определяющим признаком любой функциональной системы организма является наличие в той или иной степени выраженной морфологической дискретности ее элементов, а только потом функциональной обособленности элементов этой системы.

С другой стороны, безоговорочное признание семантической корректности тезиса о том, что ИФН-система существует в каждой клетке организма, создало бы прецедент для появления таких, не совсем ясных по смыслу, термино-

логических словосочетаний как "система митохондрий" или "система эргастоплазм", что, разумеется, вызвало бы вполне обоснованное недоумение физиологов.

И, наконец, хорошо известно, что реально значимыми для организма продуцентами ИФН являются лишь иммунокомпетентные клетки и некоторые клетки соединительной ткани, по сути формирующие морфологическую основу именно иммунной системы (20).

Только изложенного выше было бы достаточно, чтобы усомниться в достаточной обоснованности даже смыслового противопоставления ИФН-системы иммунной системе. Однако, существует и ряд других достаточно весомых аргументов против разделения ИФН-системы и иммунной системы на принципиальной основе.

Во-первых, ИФН не имеют принципиального отличия от других цитокинов ни по структуре (26), ни по механизму действия, ни по функциональной роли в качестве регулятора (5, 9).

Во-вторых, ИФН, как и некоторые другие цитокины, принимают самое активное участие в формировании абсолютного большинства иммунологических реакций, как антиген-независимого, так и антиген-зависимого типа (5, 27).

В-третьих, образование ИФН, как и антител, требует индукции и усиливается под действием практически всех биопатогенов и сотен различных веществ (наиболее активными индукторами являются вирусные РНК и их природные и синтетические имитаторы) (7, 10).

В-четвертых, будучи введены в организм извне, ИФН проявляют не только отчетливый тропизм к иммуноцитам, но и прямую или опосредованную другими цитокинами иммуномодулирующую активность, по крайней мере, в отношении некоторых иммуноцитов, ответственных за развитие как клеточных эффекторных реакций, так и продукцию антител (25).

В-пятых, защитное действие ИФН в отношении опухолевых клеток, а в ряде случаев - и инфицированных вирусами клеток, главным образом связано с их способностью повышать цитотоксическую активность естественных киллерных клеток (12, 13, 15).

В-шестых, имеются многочисленные данные, демонстрирующие существование тесной функциональной взаимосвязи и взаимозависимости ИФН (и продуцирующих их клеток) с целым рядом других гуморально-регуляторных и клеточных элементов иммунной системы, как таковой (7, 16). Поэтому не удивительно, что систематическое рассмотрение ИФН традиционно осуществляется в академическом курсе иммунологии. И, наконец, как уже упоминалось выше, есть основания считать, что появление ИФН и формирование, в близкой к современной форме, иммунной системы произошло на одной

и той же ступени филогенеза многоклеточных организмов, что косвенно указывает на эволюционную связь и подтверждает микроэволюционную близость ИФН и других регуляторных факторов иммунной системы (7, 28).

Вместе с тем, мы далеки от намерения сопоставлять реально существующие особенности реализации мультикомпонентной функции ИФН, тем более, что регуляторно-гомеостатическое и защитное значение ИФН для организма трудно переоценить. Приведенная нами аргументация имеет лишь цель подчеркнуть отсутствие принципиального различия между "ИФН-системой" и иммунной системой и необходимость использования самого термина лишь в качестве удобной и условной категории и только с определенными оговорками.

Теперь кратко коснемся важнейших различий в механизмах функционирования интерфероновой и иммунной систем, которые касаются, в основном, трех моментов: объектов, на которые направлено действие этих систем, механизмов их распознавания и способов их элиминации.

Как мы отмечали выше, объектами, с которыми иммунная система приходит в специфическое взаимодействие, являются антигены и несущие их клетки, в то время, как основным объектом действия ИФН-системы являются чужеродные НК.

В основе распознавания антигенов иммунными клетками лежит пространственная химическая конгруэнтность эпитопов антигенов, с одной стороны, соответствующим супрамолекулярным структурам, расположенным на поверхности иммунных клеток и называемых их специфическими рецепторами и, с другой стороны, активным центром антител. Не углубляясь в интимные механизмы такого взаимодействия, отметим лишь то, что иммунная система млекопитающих, эволюционировала, в основном, по пути специализации и формирования узкопрофилированных популяций иммунных клеток и увеличения разнообразия антител.

Это обеспечило ей, с одной стороны, огромный потенциал к индуктивному синтезу таких рецепторов и широчайшего спектра антител различной специфичности, а с другой стороны, способность на многие годы "запоминать" ранее встречавшиеся в ней антигены (21, 23).

При этом, распознавание одного специфического антигена осуществляется путем многократного и случайного пространственного совмещения его эпитопа с множеством разнообразных рецепторов на поверхности иммунной клетки (или свободных антител) вплоть до того момента, когда такое совмещение оказывается наиболее выгодным в энергетическом отноше-

нии. В этом случае между гидрофильными группами эпитопа и электронфильными группами рецептора (или наоборот) возникают ван-дер-ваальсовы, водородные и даже ионные связи, что внешне выражается в виде образования, более или менее, прочного комплекса "антиген-рецептор" или "антиген-антитело" (20).

Обсуждение вопросов о том, каким образом организм распознает чужие НК и какова роль ИФН в этих процессах, необходимо начать с некоторых пояснений.

Так, если антигены являются объектами, несущими признаки индивидуальной специфичности, то НК являются лишь носителями информации о первичной структуре кодируемых ими белков и, сами по себе, будучи почти изотропными на всем протяжении молекул, не обладают такой степенью индивидуальной специфичности.

ИФН, будучи одним из элементов неспецифической резистентности организма, на самом деле инициируют распознавание НК лишь на уровне не индивидуальной, а только видовой специфичности. Так, к примеру, парентеральное введение небольших количеств ДНК одного человека другому, последнему, строго говоря, ничем не грозит и не воспринимается его организмом как ксенобиотик (26). В то же время, такой уровень специфичности вполне достаточен для эффективного распознавания НК вирусов, которые могут быть представлены не характерными для эукариотов молекулами НК не только в отношении организации и пространственной конфигурации (одноцепочечные ДНК различной транскрипционной полярности, двухцепочечные РНК и циркулярные молекулы), но и первичной структуры (практическое отсутствие транскрибируемых интронов, наличие особых структур и др.) (3).

Вместе с тем, надо отметить, что точная расшифровка механизма распознавания чужеродных НК пока не завершена, хотя в общих чертах принцип его "работы" уже известен. Так, современная матрично-рекогнитивная концепция кибернетической теории распознавания образов, переложенная на "четырёхбуквенный язык" вырожденного и неперекрывающегося триплетного генетического кода, позволяет полагать, что распознавание таких НК, скорее всего, носит аналоговый характер и вряд ли существенно отличается от механизма, посредством которого работает внутриклеточная система генетического "надзора", осуществляющая узнавание и "выбраковку" дефектных фрагментов генома самой клетки (18).

В этом случае, в отличие от описанного выше механизма распознавания антигенов, системе генетического надзора приходится сравнивать не пространственную конформацию молекул, а наличие или отсутствие в анализируемой

по всей длине молекуле НК строго определенных последовательностей нуклеотидов. Теоретически это может осуществляться только путем совмещения этой молекулы НК с некоей эталонной "матрицей", единственной в своем роде и строго специфично присущей только данному биологическому виду. И, пока не будет точно выяснено, как конкретно реализуется данный механизм, обсуждая его, нам приходится довольствоваться принципом Гельвеция, согласно которому "знание общих принципов освобождает от необходимости выяснять детали" (25).

Здесь же необходимо предостеречь читателя и от абсолютизации уникальности механизмов распознавания "чужого", присущих ИФН-системе. В частности, естественные килмерные клетки (ЕКК), функционально непосредственно примыкающие к ИФН-системе и, в известном смысле, являющиеся ее эффекторами (15, 17), сами обладают способностью распознавать опухолевые и инфицированные вирусами клетки не по их НК, а по фенотипу (по особенностям молекулярных структур на их цитомембране) (22). И, хотя такое распознавание осуществляется вне зависимости от наличия на них тех или иных антигенов, оно не имеет принципиального отличия от распознавания антигенов.

В заключение сравним способы, посредством которых ИФН-система и иммунная система осуществляют элиминацию объектов, несущих признаки генетической чужеродности.

Для этого иммунная система использует стандартный "набор" защитных средств антиген-зависимого иммунного ответа (литическое действие системы комплемента и подобных ей гуморальных факторов в отношении антигенов, маркируемых антителами, и фагоцитоз антигенов и их носителей макрофагами и нейтрофилами) и эффекторных факторов неспецифической резистентности (цитотоксическая активность ЕКК, макрофагов и нейтрофилов) (22).

Элиминирующее действие ИФН в отношении чужеродных агентов реализуется посредством трех различных механизмов. Первый из них опосредован активацией некоторых эффекторных иммунных клеток и, прежде всего, ЕКК и Т-цитотоксических лимфоцитов, которые и осуществляют киллинг ксеногенных (инфицированных вирусом или опухолевых) клеток. В этом случае ИФН "работают" как классические цитокины, а сам механизм практически ничем не отличается от многих других эффекторных иммунных реакций. Это вновь подтверждает если не единство, то близость ИФН и иммунной системы.

В основе второго механизма также лежит иммунотропное действие ИФН: они усиливают экспрессию антигенов главного комплекса тканевой совместимости в иммунных клетках и, в том числе, в макрофагах, презентующих антиген.

Последнее облегчает иммунологическое распознавание антигенов, подвергшихся процессингу, и соответственно облегчает и повышает специфичность формируемых защитных как клеточных, так и гуморальных реакций антиген-зависимого иммунного ответа (23).

Очевидно, что оба указанных механизма, по сути, носят "чисто" иммунологический характер. Лишь третий механизм эффекторного действия ИФН не связан с иммунной системой и пространственно не разобщен с механизмом распознавания "чужих" НК. Он реализуется через активируемые ими ферменты, участвующие в системе регуляции синтеза НК, и воздействие на ингибиторы, рестриктирующие на стадии инициации процесс трансляцию, или, реже, через активируемые интерферонами нуклеазы, дезинтегрирующие молекулы вирусных НК. Этот механизм, будучи подобен аналогичным механизмам, используемым в эффекторном звене системы генетического "надзора", также не уникален и, как уже отмечалось, не может быть положен в основу для сегрегации самостоятельной ИФН-системы (14).

Поскольку, избирательность этого процесса сравнительно невысока, а распознавание НК, осуществляемое лишь на видовом (чаще всего, на надвидовом уровне), относительно несовершенно, данный механизм позволяет ИФН-системе эффективно выявлять и элиминировать в основном вирусные НК, отличающиеся от ДНК эукариотов по грубым структурным особенностям (3, 28).

Более того, распознав их, ИФН-система инициирует блокирование трансляции не только этих НК, но и останавливают вообще все процессы трансляции, происходящие в клетке. Поэтому, строго говоря, в инфицированной клетке под действием ИФН в конечном итоге происходит остановка не только репродукции вируса, но и всех процессов синтеза белка, что, однако, не излечивает ее от вирусной инфекции, а предохраняет от инфицирования соседние клетки.

Действия ИФН на множество инфицированных клеток снижает уровень репродукции вируса в организме в целом (7, 19).

Возможно, что последнее имеет какое-то значение в реализации противоопухолевых эффектов ИФН, хотя сегодня известно, что они плохо распознают ДНК опухолевых клеток, а антипролиферативные свойства ИФН сосредоточены, главным образом, вокруг цитотоксической активности ЕКК, направленной против опухолевых клеток (1, 30).

Таким образом, изложенные выше факты и соображения не оставляют серьезных сомнений в том, что между иммунной системой и "системой" интерферонов нет, да и не может быть,

принципиально значимых различий. Более того, надо признать, что природа удачно совместила их по принципу "два в одном" и сосредоточила в пределах клеток иммунной системы, которые несут на себе кардинальную функцию распознавания "чужого" и его элиминации из организма. И, несмотря на то, что распознавание и элиминация чужеродных белков и НК осуществляется различными механизмами, в итоге оно обеспечивает достижение лишь одной цели - сохранения структурного гомеостаза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев Д.А., Мамедов М.К. - Азерб.Ж.онкологии, 1996, N.1, с.3-10; 2. Бектеримиров Т.А., Варданян Н.В., Николаева Е.И., Попов В.Ф. - В кн.: Человек и лекарство. Мат-лы конгресса. М., 1995, с.308; 3. Букринская А.Г., Жданов В.М. Молекулярные основы патогенности вирусов. М.: Медицина, 1991; 4. Волкова М.А. - В кн.: Клиническая онкогематология. Под ред. М.А.Волковой. М.: Медицина, 2001, с.77-86; 5. Грачева Л.А. Цитокины в онкогематологии. М.: Алтус, 1996. 6. Ершов Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии. М.: Медицина, 1996, 239 с.7. Ершов Ф.И., Кадырова А.А. - Вопр. вирусологии, 1987, N.3, с.366-360; 8. Жданов В.М. Эволюция вирусов, М.: Медицина, 1990; 9. Кадагидзе З.Г. - Межд. Ж. иммунореабилитации, 1997, N.6, с.47-57; 10. Кадырова А.А. Изучение интерферогенной и противовирусной активности некоторых природных и синтетических индукторов интерферона. Автореф. канд.дисс. М., 1977; 11. Мамедов М.К. - Азерб.Ж.онкологии, 2001, N.2, с.99-108; 12. Мамедов М.К., Адигезалова Д.А. - В кн.: Проблемы онкологии и мед. радиологии. Баку, 1992, т.2, с.167-175; 13. Мамедов М.К., Дадашева А.Э.- Азерб.Ж.онкологии, 2001, N.2, с.9-15; 14. Мамедов М.К., Дадашева А.Э. - Здоровье, 2001, N.6, с.6-10; 15. Мамедов М.К., Трещалина Е.М. - Азерб.Ж. онкологии, 1999, N.1, с.8-14; 16. Мамедов М.К., Шапиро Б.Я. Лечение трансфузионных вирусных гепатитов рекомбинантным альфа-интерфероном. Ташкент: Юлдыз, 1999; 17. Мамедов М.К.,

Н.О.Гудратов, Трещалина Е.М. и др. - Азерб.Журн.онкологии, 1995, N.1-2, с.36-39; 18. Никольский А.И., Скворечная С.Б. - В кн.: Информационные системы в биологии и медицине. Томск, 1998, с.49-54; 19. Рафальский В.В. Клиническое применение препаратов интерферона. Смоленск, 1997; 20. Ройт А., Бростофф Д., Миел Д. Иммунология. М.: Мир, 1999; 21. Хайтов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. М.: Медицина, 2000; 22. Яриллин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999; 23. Abbas A., Lichtman A. Pober J. Cellular and molecular immunology. N.Y.: Harcourt Brese & Co., 2002; 24. Adorini L., Goldman M., Kaberlitz D. et al.- Immunologist, 1998, v.6, p.146-150; 25. Baron S., Tying S., Fleishmann W. - JAMA, 1991, v.266, p.1375-1383; 26. Chiang J., Gloff C., Yoshizawa C. et al. - Pharmacol. Res., 1993, v.10, p.567-572; 27. Interferon. Ed.I.Gresser. 11-th ed. London: Acad.Press, 1993; 28. Peakman M., Vergant D. Basic and clinical immunology. N.Y.: Acad.Press, 1997; 29. Restifo N., Wunderlich J. - In: Cancer: Principles and practice of oncology. Eds. V.De Vita et al. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001, p.43-76; 30. Rosenberg S. - Immunity, 1999, v.10, p.281-285.

SUMMARY

Immune system: two mechanisms and one aim
A.Kadyrova

The authors analyzed and compared basic data concerning biological role and significance of interferons (IFN) and main factors of immune system (FIS). They have demonstrated that IFN and FIS are characterized with the similar evolutionary development and had similiarity in recognition and elimination mechanisms of genetically xenogenic agents. It was concluded that IFN and FIS are surely belong to immune system but forming two different mechanism of keeping structural homeostasis.

Поступила 13.09.2003

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Показатели иммунологического гомеостаза у онкологических больных с субклиническими нарушениями функции печени

С. Р. Гиясбейли

Онкологический научный центр,
г. Баку, Азербайджанская Республика

Как известно, угнетение иммунологической реактивности и развитие иммунопатологических процессов регулярно регистрируется у онкологических больных, причем их выраженность закономерно возрастает с увеличением клинической стадии опухолевого процесса. Еще в 1992 г. было впервые показано, что у больных раком молочной железы (РМЖ) II и III клинической стадии, имевших биохимические признаки субклинической дисфункции печени, изменения показателей иммунологического статуса носили более выраженный характер, нежели у больных РМЖ тех же стадий, но не имевших патологии печени (1).

Это, как и ряд других данных, позволяет считать, что развитие иммунологических нарушений у онкологических больных является, главным образом, следствием системного действия злокачественной опухоли (ЗО) на организм. Значение этого фактора для больных распространенными формами ЗО особенно велико в силу двух причин: во-первых, как известно, интенсивность системного действия ЗО возрастает по мере увеличения массы опухолевых клеток и, во-вторых, больные такими формами ЗО дольше и больше подвергаются противоопухолевому лечению и, в первую очередь, химиотерапии цитостатическими препаратами, важным побочным действием которых является иммунодепрессия (6).

Ранее мы сообщали, что у больных распространенными формами РМЖ, раком легкого (РЛ) и желудка (РЖ), имевших биохимические признаки субклинических нарушений функций печени (НФП), отмечаются более глубокие изменения ряда показателей метаболического гомеостаза по сравнению с больными аналогичными формами этих опухолей, но не имевших указанных признаков НФП (3).

А поскольку в основе системного и, в том числе, иммуносупрессивного действия ЗО на организм в итоге, лежат прогрессирующие и взаимосугубляющиеся нарушения метаболического гомеостаза, можно полагать, что у данного контингента онкологических больных, в условиях наличия у них НФП, изменения показате-

лей иммунологического гомеостаза, по всей вероятности, будут более глубокими и более выраженными. Однако, в доступной нам литературе мы не нашли публикаций, содержащих информацию о состоянии иммунного статуса у больных распространенными формами РМЖ, РЛ и РЖ, имевших субклинически протекавшие НФП.

В связи с изложенным выше, мы поставили перед собой цель оценить частоту обнаружения изменений важнейших иммунологических показателей у больных распространенными формами ЗО, имеющих и не имеющих биохимические признаки НФП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. *Комплексному иммунологическому обследованию было подвергнуто 120 больных распространенными формами ЗО. В их числе было 40 больных РМЖ, 40 больных РЛ и 40 больных с метастатическим РЖ. В группах больных РМЖ и РЛ было по 20 больных III и по 20 больных IV клинической стадией заболеваний. Все три группы были сформированы таким образом, чтобы половина из обследованных больных имела биохимические признаки субклинического НФП, а другая половина имела бы нормальные биохимические показатели (2). Это позволяло сравнить соответствующие иммунологические показатели между этими подгруппами больными.*

Иммунологическое обследование включало определение только тех показателей, которые считаются наиболее информативными в онкологической клинике, а именно: 1) показатели, отражающие общее состояние клеточного иммунитета: процентное содержание в периферической крови Т-лимфоцитов (Т-л) с учетом соотношения Т-хелперных (Тх) и Т-супрессорных (Тс) лимфоцитов; 2) показатели, отражающие состояние естественной резистентности: содержание в крови естественных киллерных клеток (ЕКК) и уровень комплемента в сыворотке крови; 3) уровень в сыворотке крови циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), косвенно отражающий интенсивность аутоиммунных процессов в организме; 4) концентрация в сыворотке альфа-интерферона (α -ИФН) и интерлейкинов 1 (ИЛ-1), 2 (ИЛ-2) и 6 (ИЛ-6).

Определение количества в крови Т-л, Тх и Тс было осуществлено методом розеткообразова-

ния в сочетании с теофиллиновым тестом, воспроизведенным по известной методике по Jondal et al. (1977) (5).

Процент ЕКК в крови определяли с помощью визуально-микроскопического метода Timonen et al. (1981) в нашей модификации, основанного на подсчете больших "гранулодержущих" лимфоцитов в обычных мазках крови, окрашенных по Папенгейму (4).

Учитывая существование высокой степени линейной корреляции между результатами радиометрической и биохимической регистрации количественного определения цитотоксической активности ЕКК (8), для оценки функционального состояния этих клеток мы использовали последний подход, основанный на использовании в качестве клеток-мишеней куриных эритроцитов и учете результатов путем фотометрического определения количества гемоглобина, "выходящего" в среду из эритроцитов, подвергшихся "атаке" ЕКК. При этом цитотоксичность ЕКК оценивали по величине индекса цитотоксичности, вычисляемого по известной формуле (7).

Определение уровня комплемента в сыворотке было осуществлено с помощью унифицированного метода определения гемолитической активности комплемента по 50-ти процентному гемолизу (СН 50%). Метод сводился к определению одной 50%-ной гемолитической единицы, т.е. объема испытуемой сыворотки, который содержал СН50% (5).

Определение концентрации ЦИК, осуществленное нами по методике Digeon et al. (1977) было основано на способности низких концентраций раствора полиэтиленгликоля преципитировать растворимые комплексы "антиген-антитело", т.е. ЦИК (10).

Уровни α -ИФН и интерлейкинов были определены твердофазным иммуоферментным методом с помощью соответствующих калибровочных кривых, построенных по результатам исследования эталонных образцов сывороток с известной концентрацией этих цитокинов.

Нами было подсчитано количество больных, имеющих изменения (отклонения от нормальных величин) указанных иммунологических показателей. При этом, изменением показателей считали их пороговые величины, представленные в левой колонке таблицы.

Поэтому при анализе полученных результатов во внимание принимались не абсолютные цифровые показатели этих параметров, а частота обнаружения их отклонения от нормальных величин у больных, имеющих и не имеющих биохимических

признаков НФП. Такой подход позволял легко и более наглядно осуществить сравнение между соответствующими показателями у больных, имеющих и не имеющих биохимические признаки НФП.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Результаты проведенного сравнения сведены в таблицу.

Как следует из данных, приведенных в таблице, частота снижения количества Т-л у всех больных с признаками НФП была заметно ниже, чем у больных, не имеющих НФП. Из общего числа больных с признаками НФП данный показатель был снижен у 78,3±5,3%, тогда как среди больных, не имеющих признаки НФП, он оказался сниженным лишь у 66,7±6,0%. При этом, однако, статистически значимая разница между ними не выявилась.

Аналогичная картина имела место и в отношении частоты снижения величины соотношения "Тх/Тс": статистическая разница между частотой выявления этого феномена у больных с признаками НФП и больных без этих признаков также не выявлялась.

Повышение ЦИК у больных с признаками НФП выявлялось значительно чаще, нежели у больных без этих признаков. Так, среди пациентов с признаками НФП повышение ЦИК было отмечено в 61,7±6,3% случаях, в то время, как у больных без НФП этот показатель был повышен в 78,3±5,7% случаев (p<0,05). Более частое обнаружение в крови онкологических больных с признаками НФП повышения уровня ЦИК мы восприняли как косвенный признак более частого наличия у них аутоиммунных реакций.

Снижение уровня комплемента также чаще выявлялось у больных с признаками НФП: среди общего числа больных с признаками НФП он составил 71,7±5,8%, а у больных, не имеющих признаков НФП, его величина оказалась равной лишь 48,3±6,5%. Очевидно, что и в этом случае разница между этими показателями статистически достоверна (p<0,01). Этот факт мы расценили, как косвенное указание на то, что наличие дисфункции печени чаще сопровождается снижением противомикробной резистентности организма.

Судя по цифровым показателям, процент ЕКК от общего числа лимфоцитов в нашем наблюдении был снижен в 91,7±3,5% случаях среди общего числа больных, имеющих признаки НФП, и в

Таблица. Частота изменения иммунологических показателей у больных распространенными формами РМЖ, РЛ и РЖ, имеющих и не имеющих биохимические признаки НФП

Изменение показателей	РМЖ III и IV		РЛ III и IV		РЖ IV	
	с НФП n=20	без НФП n=20	с НФП n=20	без НФП n=20	с НФП n=20	без НФП n=20
Снижение Т-л <45%	75%	65%	70%	50%	90%	85%
Снижение Тх/Тс <1,5	80%	70%	75%	55%	100%	90%
Снижение ЕКК <16%	85%	65%	90%	75%	100%	90%
Повышение ЦИК >150	70%	55%	65%	50%	100%	80%
Снижение комплемента <50 ед	60%	40%	55%	35%	100%	70%

76,7±5,4% случаях среди общего числа больных, не имевших этих признаков. При этом, между приведенными двумя показателями существовала устойчивая разница ($p < 0,01$).

Помимо отмеченного, вопрос о количестве ЕКК в крови этих двух категорий онкологических больных, в свете стоявших перед нами задач, требует некоторых дополнительных пояснений, связанных с нашими предыдущими исследованиями.

Для выяснения патогенетического значения естественной противоопухолевой резистентности (ЕПР) в реализации негативного влияния патологии печени на течение онкологических заболеваний, мы приняли участие в планировании и анализе результатов проведенного еще в 1998 г. иммунологического обследования 37 больных хроническим персистирующим гепатитом В (ХГВ) и 33 больных циррозом печени (ЦП), находившихся на лечении в отделении гастроэнтерологии Объединенной больницы нефтеразведчиков ГНК Азербайджанской Республики, а также 30 здоровых доноров крови.

Обобщение результатов этого исследования показало, что, по сравнению со здоровыми донорами, больные ХГВ имели снижение процента ЕКК в крови ($p < 0,02$) и их цитотоксической активности по отношению к опухолевым клеткам ($p < 0,01$). Кроме того, у них отмечалось снижение активности аденозиндезаминазы (АДА) в ЕКК ($p < 0,01$) и уровня α -ИНФ в сыворотке крови ($p < 0,05$). Больные ЦП имели еще более выраженные изменения этих же показателей: снижение числа ЕКК ($p < 0,01$) и цитотоксической активности ЕКК ($p < 0,001$), снижение удельной активности АДА в ЕКК ($p < 0,01$) и уровня α -ИНФ в сыворотке крови ($p < 0,01$). Это косвенно указывало на то, что ХГВ и, особенно ЦП, сопровождаются заметными изменениями ряда показателей, отражающих состояние ЕПР. Поэтому, приняв во внимание эти данные, можно было полагать, что более выраженное снижение числа ЕКК в крови онкологических больных, имеющих биохимические признаки НФП, сопровождается рядом сдвигов в иммунном статусе и, в том числе, угнетением ЕПР (9, 11).

И, наконец, описанным выше способом были обобщены результаты определения уровней α -ИНФ и регуляторных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2 и ИЛ-6) в сыворотке крови 60 больных РМЖ, РЛ и РЖ, находившихся в IV стадии заболевания. При этом, у 30 из них имелись биохимические признаки НФП, а у других 30 эти признаки отсутствовали.

Выявить статистически устойчивое различие между уровнями α -ИНФ, ИЛ-1 и ИЛ-2 в крови у больных, имевших и не имевших биохимические признаки НФП, не удалось. В то же время, такое различие имелось в отношении уровня ИЛ-6: среди больных с признаками НФП снижение его

концентрации (ниже 30,0 пг/мл) было отмечено у 86,7±6,2% больных, в то время, как среди больных, не имевших признаков НФП, снижение уровня ИЛ-6 выявилось лишь у 60,0±8,9% пациентов.

При этом, различие между показателями носило статистически значимый характер ($p < 0,05$).

Таким образом, приведенные выше результаты наших исследований с определенностью демонстрируют, что у больных распространенными формами РМЖ, РЛ и РЖ, имеющих биохимические признаки НФП, частота изменения целого ряда иммунологических показателей оказалась выраженной в большей степени по сравнению с аналогичными изменениями, выявленными у больных распространенными формами этих же онкологических заболеваний, но не имеющих биохимических признаков НФП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев Д.А., Мамедов М.К., Зейналов Р.С., Рагимова С.Э. Рак молочной железы и функциональное состояние печени. Баку: Знание, 1996; 2. Гиясбейли С.Р. Изменение показателей функционального состояния печени больных некоторыми злокачественными опухолями. - Vita Med.J., 2002, N.1-2, с.47-49; 3. Гиясбейли С.Р. Показатели метаболического гомеостаза у онкологических больных с субклиническими нарушениями функции печени. - Биомедицина, 2003, N.2, с.19-22; 4. Гудратов Н.О., Мамедов М.К., Ахмедова И.Н. и др. Определение естественных киллерных лимфоцитов у онкологических больных. Методические рекомендации. Баку, 1992; 5. Лабораторные методы исследования в клинике. Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987; 6. Мамедов М.К., Оруджили Р.Н., Гиясбейли С.Р. Воздействие злокачественной опухоли на организм: современные представления. - Азерб.Ж.онкол. и смежных наук, 2000, т.6, с.10-15; 7. Мамедов М.К., Гудратов Н.О., Мамедов В.Т., Адигезалова Д.А. Методы оценки естественной противоопухолевой резистентности в клинических и экспериментальных исследованиях. Методические рекомендации. Баку, 1992; 8. Семенов Т.А., Михайлов М.И., Мамедов М.К. и др. Биохимическая регистрация результатов оценки цитотоксической активности естественных киллерных клеток. - В кн.: Мат-лы конфер.: Актуальные вопросы физиологии и патологии человека, посвященной 150-летию И.П.Павлова. Баку, 1999, с.313-316; 9. Dadasheva A., Giyasbeily S., Mamedov M., Semenenko T. Depression of the natural antitumor resistance in patients with chronic hepatitis B viral infection. - In: Immunology and liver. Int. Falk Symp. Basel, 1999, p.115; 10. Digeon M., Laver M., Risa J., Bach J. Detection of circulating immune complexes in human sera by simplified assay with polyethylenglycol. - J.Immunol.Meth., 1977, v.16, N.2, p.165-183; 11. Mamedov M., Giyasbeily S., Orujev E., Dadasheva A. Liver cirrhosis and depression of natural antitumor resistance. - In: Liver cirrhosis and its development. Int.Falk Symp. Basel, 1999, p.335.

SUMMARY

Immunologic homeostasis parameters in malignant tumour patients with subclinic liver dysfunctions S. Giyasbeili

The author compared results of immunological testing of patients with advanced forms of malignant tumors (40 breast cancer, 40 lung and 40 stomach cancer) who had subclinic liver dysfunctions (SLD) and had no one.

It was shown different immunologic disorders at patients with biochemical signs of SLD were detected more frequently than at patients without these signs.

Поступила 19.03.2003

Факторы, влияющие на вертикальную передачу вируса гепатита С

И. А. Агаев, С. Н. Ахмедова

Азербайджанский медицинский университет,
г. Баку, Азербайджанская Республика

Хорошо известно, что инфекция, вызванная вирусом гепатита С (ВГС), отличается глобальным распространением: согласно лишь официальным данным, число лиц, вовлеченных в обусловленный ВГС эпидемический процесс, в мире превышает 200 млн человек (20), а судя по мнению некоторых авторов, достигает 600 млн человек (4).

Изучение эпидемиологических особенностей этой инфекции уже сегодня не оставляет сомнений в том, что она, будучи одной из типичных трансфузионных инфекций (3), может передаваться и посредством других механизмов, не имеющих отношения к гемотрансфузиям, что позволяет классифицировать ее, как инфекцию с множественными путями передачи возбудителя (2). При этом, динамический контроль показывает, что в развитых странах доминантный механизм распространения ВГС-инфекции меняется. Так, в детском возрасте она, в основном, имеет трансфузионное происхождение. После того, как продукты крови стали с 1991 г. проходить скрининговое обследование на антитела к ВГС (анти-ВГС), снизилась лишь частота посттрансфузионных заболеваний (и в том числе, среди детей), гепатитом С (ГС), а относительное число инфицированных детей реально не изменилось (5). Только этот факт, уже сам по себе, косвенно указывает на эпидемиологическую значимость иных, нетрансфузионных, путей передачи ВГС и, в частности, связанных с заражением их от инфицированных матерей.

Между тем, исследование реальности значимости этих путей и определения их роли в балансе всех потенциально возможных путей передачи ВГС от матери ребенку позволило бы не только принимать их во внимание при прогнозировании процесса распространения инфекции в следующих поколениях населения, но и эффективнее воздействовать на эпидемический процесс с целью снижения вероятности их реализации.

Среди естественных путей передачи ВГС только половой путь может рассматриваться как "горизонтальный". Остальные пути передачи ВГС, приводящие к инфицированию ребенка от матери, могут быть условно объединены под рубрикой "вертикальных". Очевидно, что передача вируса от матери ребенку, в принципе, мо-

жет происходить внутриутробно (пренатально), во время родов или немедленно после них (интра- и перинатально). Формально, к "вертикальному" можно отнести и инфицирование ребенка от матери, происходящее в течение постнатального периода и реализуемое, главным образом, посредством грудного молока (галактогенный путь).

В настоящем сообщении мы обобщили имеющиеся в доступной нам современной литературе сведения, отражающие некоторые аспекты процесса "вертикальной" передачи ВГС от матери ребенку.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Мы подвергли мета-анализу данные, полученные в ходе ряда исследований (357 документированных случаев вертикальной передачи ВГС), результаты которых были проанализированы в нескольких аналитических обзорах.

Поскольку объективность результатов исследований, во многом, зависит, с одной стороны, от количества обследованных пар мать-ребенок, а с другой стороны, от диагностических возможностей использованных методов, во внимание принимались сообщения, в которые включались данные, полученные при исследовании не менее 10 серопозитивных матерей и только при условии подтверждения результатов с помощью RT-PCR.

Обобщая результаты разных исследований, мы стремились представлять их в стандартизированной форме, которая позволяла бы делать на их основе корректные выводы. Поэтому частоту вертикальной передачи ВГС выражали в двух формах: в виде среднего уровня (суммы описанных случаев инфицирования новорожденных, деленной на общее количество пар "мать-дитя") и взвешенного уровня, при расчете которого результаты каждого исследования принимались во внимание с поправкой на дисперсию (выраженной в величине, обратной среднеквадратичному отклонению), что позволяло учитывать влияние на результат объема выборки и интерпретировать результаты разных исследований.

Признаками передачи ВГС от матери к ребенку считали персистенцию в сыворотке крови детей анти-ВГС по истечении, по меньшей мере, 12 месяцев после рождения или, по крайней мере, однократное выявление на протяжении этого срока в их сыворотках РНК ВГС. Результаты определения РНК ВГС в пуповинной крови не принимались во внимание в связи с возможностью контаминации материала материнской кровью.

В ряде исследований была оценена степень

гомологии РНК ВГС у матерей и новорожденных и ее влияние на процесс вертикальной передачи вируса.

Степень гомологии двух образцов РНК ВГС оценивалась по средней частоте замен нуклеотидов или по величине показателя "генетической отдаленности" (соотношение частоты антонимных и синонимных замен нуклеотидов), отражавшего интенсивность позитивного селективного отбора на молекулярном уровне (15). Сравнив последовательности нуклеотидов РНК клонов ВГС, выделенных от женщин и детей, оценивали степень их генетической разнородности (10). В части наблюдений было проведено сравнение наиболее быстро эволюционирующей части генома ВГС (гипервариабельного региона) с использованием молекулярно-филогенетического анализа, что позволяло верифицировать передачу материнского вируса ребенку (17).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Проведенный нами метаанализ позволил сформулировать ряд положений, отражающих характер влияния ряда факторов на интенсивность и характер реализации вертикальной передачи ВГС от инфицированных матерей их детям.

Распространенность ВГС-инфекции среди беременных женщин, в виде процента серопозитивности, широко варьировала от выборки к выборке и в среднем составляла около 10%. Максимальная превалентность (70,1%-95,4%) была отмечена в группах женщин, регулярно получавших внутривенные инъекции наркотиков. Среди серопозитивных женщин РНК ВГС определялась с частотой 26,8-94,4%, составляя в среднем 65,5% (5, 8, 16, 18). Ряд авторов отмечает, что частота вертикальной передачи ВГС повышается среди женщин, коинфицированных вирусом иммунодефицита (ВИЧ): ее средний уровень составил 22,1%, а взвешенный - 19,4% (7, 21).

Частота вертикальной передачи вируса среди детей, рожденных серопозитивными женщинами, варьировала от 0% до 35,3%. Средний уровень составлял 5,6%, а взвешенный уровень - лишь 1,7%. В наблюдениях был документирован единственный случай вертикального инфицирования новорожденного от серонегативной матери (22, 25).

Сравнение частоты вертикальной передачи у серопозитивных и РНК-позитивных женщин показало, что такая передача заметно чаще происходила у женщин с вирусемией. В этом случае ее средний уровень составлял 8,1%, а взвешенный уровень - лишь 4,3% (14).

Более того, была обнаружена тесная корреляция между уровнем "вирусной нагрузки" у матери и вероятностью вертикальной передачи ВГС от матери ребенку: при более высокой вирусной нагрузке частота ее регистрации была достоверно выше, нежели при низкой вирусной нагрузке. Большинство исследователей отмечали вертикальную передачу ВГС у женщин с

уровнем вирусемии 100 тыс - 1 млн копий/мл. (23). Это позволяет рассматривать высокую вирусную нагрузку у матери как фактор риска, отражающий вероятность вертикальной передачи ВГС от матери ребенку.

Молекулярные исследования показали, что дети, как правило, имели единственный доминантный вариант вируса, в то время как у матерей можно обнаружить множественные варианты. Несмотря на то, что штаммы вируса у новорожденных могли быть представлены минорными материнскими штаммами, степень их генетического расхождения начинала увеличиваться с 6 месячного возраста. Эволюция штаммов ВГС у новорожденных отличалась от наблюдаемой у их матерей, а число замен нуклеотидов росло по мере увеличения возраста (6, 10, 19).

Судя по результатам анализа литературы, можно полагать, что способ родоразрешения не оказывает существенного влияния на частоту реализации вертикальной передачи ВГС, поскольку большинство исследователей указывает, что среди новорожденных, рожденных естественным путем и путем кесарева сечения, общая частота вертикальной передачи вируса была сходной. Средние уровни вертикальной передачи при родах и кесаревом сечении составили 6,7% и 6,8%, а взвешенные уровни - 4,3% и 3,0%, соответственно. Лишь в одном наблюдении естественный путь родоразрешения сопровождался более высокой частотой передачи вируса, чем хирургический (11, 14).

Специального обсуждения требует вопрос об эпидемиологическом значении галактогенного пути передачи ВГС, поскольку известно, что женщины, больные хроническим гепатитом В или являющиеся бессимптомными носителями HBsAg, могут инфицировать своих детей в процессе грудного вскармливания (1). Однако, этому противоречит факт чрезвычайно низкой концентрации ВГС в крови больных и "здоровых" инфицированных лиц и ограниченность подтвержденных данных о выявлении в грудном молоке РНК ВГС (12). Кроме того, нельзя исключить, что документированная как галактогенная передача вируса, на самом деле, была обусловлена его попаданием в организм ребенка вместе с кровью, насасываемой из микротравм соска.

Иначе говоря, единого суждения по этому вопросу до сих пор нет. Во всяком случае, по результатам рассмотренных нами исследований общий уровень вертикальной передачи ВГС у кормящих грудным молоком и не кормящих женщин не отличался. Так, у детей, находящихся на грудном и искусственном вскармливании, ее средние уровни составили 6,0% и 6,3%, соответственно, а взвешенные уровни 3,7% и 3,9%, соответственно (9). Только в одном исследовании было показано, что в молозиве присутствовала РНК ВГС. Поэтому при строгой оценке этих дан-

ных приходится признать, что однозначный ответ на этот вопрос все еще не получен.

Это показывает целесообразность продолжение исследований, направленных на поиски и, в первую очередь, с помощью модернизированных и высокочувствительных вариантов PCR, РНК ВГС в грудном молоке инфицированных женщин. Только регулярное присутствие или отсутствие в нем ВГС способно внести ясность в этот важный вопрос.

В заключение надо отметить, что в ряде наблюдений были отмечены случаи спонтанного исчезновения сывороточной РНК ВГС, трактуемые как клиренс вируса или транзиторная виремия (13, 24), а также случаи пассивного переноса материнских антител детям (9). При этом постепенное снижение титра сывороточных анти-ВГС у новорожденных происходило в течение первых 18 месяцев жизни. Лишь в трех случаях исчезновение материнских антител было отмечено между 20-24 месяцами жизни. Однако, судя по выводам авторов, эти явления не дают оснований для определенных выводов и нуждаются в дополнительном изучении (23).

Таким образом, на основании изложенного можно сделать следующие выводы. Во-первых, факторами высокого риска реализации вертикальной передачи ВГС от матерей детям являются: высокий уровень вирусной нагрузки (более 1 млн копий РНК ВГС в мл) у матери, наличие в анамнезе внутривенных введений наркотиков и коинфекция, обусловленная ВИЧ. Во-вторых, способ родоразрешения и грудное вскармливание не оказывают заметного влияния на частоту вертикальной передачи ВГС от матери ребенку. В-третьих, влияние генотипа ВГС на частоту его вертикальной передачи остается не ясным и требует дополнительного изучения (19).

Очевидно, что целенаправленное воздействие на отмеченные выше факторы, которые повышает частоту инфицирования ребенка от матери, может минимизировать вероятность вертикальной передачи ВГС. Значение же такой передачи вируса остается весьма важным. Так, исходя из того, что в мире имеется 200 млн инфицированных и 35% из них - женщины репродуктивного возраста с ежегодным уровнем фертильности в 2%, то по самым скромным оценкам порядка 50 тысяч новорожденных будут инфицированы ВГС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахмедова С.Н. Кормление молоком как возможный путь передачи вируса гепатита С. - В кн.: Мат-лы научно-практ. конф., посвященной 75-ти летию со дня рождения профессора А.Т.Аббасова Баку, 2003, с.5; 2. Мамедов М.К., Гиясбейли С.Р., Гусейнов С.Н. Вирусные гепатиты. Минск: Неман, 2000; 3. Мамедов М.К., Гиясбейли С.Р., Рагимов А.А. и др. О значении трансфузионных вирусных инфекций в современной медицине. - Здоровье, 1999, N.6., с.57-59. 4. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты. С.-Пб.: Теза, 1998; 5. Ackerman Z., Ackerman E., Paltiel O. Intrafamilial transmission of HCV: a systematic review. - J. Viral.

Hepat., 2000, v.7, p.93-103; 6. Argentini C., Dettori S., Loiacono L. et al. Molecular characterization of HCV 1b intrafamilial infection through three generations. - Virus Genes, 1999, v.18, p.169-174; 7. Catalano D., Pollio F., Ercolano S. et al. Maternal-fetal transmission of HCV: role of HIV as a risk factor. - Minerva Ginecol., 1999, v.51, p.117-119; 8. Gervais A., Bacq Y., Bernuau J. et al. Decrease in serum ALT and increase in serum HCV RNA during pregnancy in women with chronic hepatitis C. - J. Hepatol., 2000, v.32, p.293-299; 9. Ghisetti V., Barbui A., Varetto S. Neonatal transmission of HCV infection: experience in a group of mother-to-infant positive anti-HCV. - Microbiologia Medica, 1997, v.12, p.358-359; 10. Halfon P., Quentin Y., Roquelaure B. Mother-to-infant HCV transmission: molecular evidence of superinfection by homologous virus in children. - J. Hepatol., 1999, v.30, p.970-978; 11. Hillemanns P., Dannecker C., Kimmig R. Obstetric risks and vertical transmission of HCV infection in pregnancy. - Acta Obstet. Gynecol. Scand., 2000, v.79, p.543-547; 12. Kage M., Ogasawara S., Kosai K. et al. HCV RNA present in saliva but absent in breast-milk of the hepatitis C carrier mother. - J. Gastroenterol. Hepatol., 1997, v.12, p.518-521; 13. Ketzinel-Gilad M., Colodner S., Hadary R. et al. Transient transmission of HCV from mothers to newborns. - Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 2000, v.19, p.267-274; 14. La Torre A., Biadaioli R., Capobianco T. et al. Vertical transmission of HCV. - Acta Obstet. Gynecol. Scand., 1998, v.77, p.889-892; 15. Manzin A., Solfrosi L., Debiaggi M. et al. Dominant role of host selective pressure in driving HCV evolution in perinatal infection. - J. Virol., 2000, v.74, p.4327-4334; 16. Mazza C., Ravaggi A., Rodella A. et al. Prospective study of mother-to-infant transmission of HCV infection. - J. Med. Virol., 1998, v.54, p.12-19; 17. Murakami J., Okamoto M., Miyat H. et al. Evolution in the hyper-variability region of HCV in infants after vertical transmission. - Pediatr. Res., 2000, v.48, p.450-456; 18. Polywka S., Feucht H., Zollner B., Laufs R. HCV infection in pregnancy and the risk of mother-to-child transmission. - Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1997, v.16, p.121-124; 19. Rapicetta M., Argentini C., Spada E. et al. Molecular evolution of HCV genotype 2c persistent infection following mother-to-infant transmission. - Arch. Virol., 2000, v.145, p.965-977; 20. Report of WHO consultation. Global surveillance and control of hepatitis C. - J. Viral hepatitis., 1999, v.6, p.3-4; 21. Spencer J., Latt N., Beeby P. et al. Transmission of hepatitis C virus to infants of human immunodeficiency virus-negative intravenous drug-using mothers: rate of infection and assessment of risk factors for transmission. - J. Viral Hepat., 1997, v.4, p.395-409; 22. Tanzi M., Bellelli E., Benaglia G. et al. The prevalence of HCV infection in a cohort of pregnant women, the related risk factors and the possibility of vertical transmission. - Eur. J. Epidemiol., 1997, v.13, p.517-521; 23. Xiong S., Okajima Y., Ishikawa K. et al. Vertical transmission of HCV: risk factors and infantile prognosis. - J. Obstet. Gynaecol. Res., 1998, v.24, p.57-61; 24. Yokosuka O., Kojima H., Imazeki F. et al. Spontaneous negativation of serum HCV RNA is a rare event in type C chronic liver diseases: analysis of HCV RNA in 320 patients - J. Hepatol., 1999, v.31, p.394-399; 25. Zanetti A., Tanzi E., Romano L. et al. A prospective study on mother-to-infant transmission of HCV. - Intervirology, 1998, v.41, p.208-212.

SUMMARY

Factors influencing to vertical transmission of hepatitis C virus

I. Agayev, S. Akhmedova

The authors have summarized published data reflected the significance of different factors potentially act to vertical hepatitis C virus (HCV) transmission from mothers to newborn infants. Results of metaanalysis performed demonstrated that frequency of HCV vertical transmission was comparatively higher at women with high level of viremia, at women coinfecting HIV and mothers who were intravenously drug abusers. Breast-feeding of infants did not significantly influenced to rate of HCV vertical transmission.

Поступила 16.05.2003

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Серологические маркеры инфицирования ВГВ и ВГС в группах с высоким риском инфицирования в Нахчыванской Автономной Республике

З. Н. Ибрагимов, Р. И. Таги-заде, А. А. Керимов

Региональный центр переливания крови Нахчыванской Автономной Республики, г.Нахчыван;
НИИ гематологии и трансфузиологии им.Б.А.Эйвазова, г. Баку, Азербайджанская Республика

Учитывая ограниченность сведений о характере распространения вирусных гепатитов среди населения, проживающего в Нахчыванской Автономной Республике (4), мы с помощью иммуноферментного метода осуществили серологическое обследование нескольких групп населения этого региона (9, 11).

В данном сообщении мы приводим результаты этого обследования, которое отражает широту распространения инфекций, вызванных вирусами гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС) среди нескольких групп, отличающихся высоким риском инфицирования этими вирусами. В качестве таковых были избраны: лица в возрасте 18-60 лет, регулярно сдающие кровь, больные сахарным диабетом, получающие инъекции инсулина, больные туберкулезом легких, лица, обращавшиеся к венорологам по поводу инфекционных заболеваний, передающихся половым путем, контингент больных, наблюдавшихся в психоневрологическом и наркологическом учрежде-

ниях, а также больные злокачественными опухолями. Численность этих групп и результаты проведенного серологического исследования представлены в таблице.

Очевидно, что частота выявления серологических маркеров инфицирования ВГВ и ВГС у обследованных нами доноров крови вполне сопоставима с аналогичными показателями, установленными у доноров в г.Баку (1, 6). При этом, эти показатели у лиц, сдававших кровь более 5 лет (HBsAg - 11,8%, анти-ВГС - 17,6%), значительно превосходили таковое у лиц, являвшихся донорами менее 3 лет (HBsAg - 3,4%, анти-ВГС - 4,2%). Эти данные согласовались с данными, полученными другими исследователями, обследовавшими несколько контингентов доноров крови (8).

Частота выявления HBsAg и анти-ВГС у больных сахарным диабетом значительно превосходили таковые у обследованных нами безвозмездных доноров крови (студенты), также прожи-

Таблица. Частота выявления серологических маркеров инфицирования ВГВ и ВГС у представителей различных групп населения, отличающихся высоким риском инфицирования этими вирусами

Группы обследованных лиц	Число обследованных	HBsAg	анти-HBs	анти-HBc	анти-ВГС
Доноры	100	4,0%	21,0%	10,0%	12,0%
Больные сахарным диабетом	50	16,0%	28,0%	18,0%	14,0%
Больные туберкулезом легких	52	11,5%	34,6%	*	15,4%
Больные с венерическими заболеваниями	50	6,0%	20,0%	*	12,0%
Лица, находящиеся на учете в ПННУ	50	14,0%	24,0%	*	22,0%
Онкологические больные	63	6,4%	26,9%	*	12,7%
Всего	365	8,8%	25,2%	-	14,2%

* - не определяли

ПННУ - психоневрологические и наркологические учреждения

вающих в Нахчыванской Автономной Республике ($p < 0,05$) (9). При этом у больных, получавших инсулин менее 3 лет, эти показатели (9,1% и 9,1%, соответственно) были заметно ниже, чем у больных, лечившихся 3 года и более (21,4% и 17,9%, соответственно).

Среди больных инфильтративным (острым) туберкулезом легких HBsAg и анти-ВГС выявились в 5,6% и 5,6% случаев, соответственно, в то время как у больных фиброзно-кавернозным (хроническим) туберкулезом они составляли 14,7% и 20,6%, соответственно. Надо отметить, что аналогичная закономерность была отмечена и авторами, обследовавшими группу больных туберкулезом легких - жителей г. Баку (5).

Показатели выявления HBsAg и анти-ВГС у больных с инфекциями, передающимися половым путем (ИППП), оказались значительно выше таковых у безвозмездных доноров крови, жителей Нахчыванской Автономной Республики (9) и, в то же время, были близки к показателям, полученным в ходе аналогичных исследований (7) и, в том числе, проведенных в г.Баку (10).

Надо отметить, что и в этом случае была обнаружена разница между величиной этих показателей у больных, обратившихся по поводу ИППП в первый раз (3,2% и 6,5%, соответственно), и у больных, ранее болевших ИППП (10,5% и 21,1%, соответственно).

При исследовании сыворотки крови лиц, находящихся под наблюдением психиатров и наркологов, было установлено, что HBsAg и анти-ВГС присутствовали в 8,7% и 17,4% сывороток психических больных, в 25,0% и 18,8% сывороток больных хроническим алкоголизмом и в 27,3% и 36,4% сывороток наркоманов. Эти результаты, согласующиеся с данными, полученными другими авторами (2), подтвердили то, что данный контингент больных - жителей Нахчыванской Автономной Республики также формирует группу высоко риска инфицирования этими вирусами.

Осуществив серологическое исследование сывороток крови онкологических больных с различными злокачественными опухолями, мы пришли к двум выводам.

Во-первых, частота выявления HBsAg и, особенно, анти-ВГС в группе онкологических больных были выше, чем аналогичные показатели у безвозмездных доноров крови - жителей Нахчыванской Автономной Республики (9). Во-вторых, полученные нами показатели инфицированности этих больных подтвердили аналогичные результаты, ранее опубликованные другими азербайджанскими исследователями (3).

Таким образом, результаты проведенного

нами серологического обследования сывороток крови, полученных у групп населения Нахчыванской Автономной Республики, отличающихся высоким риском инфицирования ВГВ и ВГС, продемонстрировали, что и в этом регионе представители указанных групп также отличаются высокими показателями инфицирования этими вирусами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аббасов Э.Ю., Ганбов Н.Т., Мамедов М.К. Антитела к ВГС у профессиональных доноров крови. - В кн.: Тезисы докладов 1-й научно-технич. конфер. Азерб.Национальн. унив-та. Баку, 1997, с.27; 2. Бутикова Ж.А., Нечаев В.В., Сулягина Л.Г. Вирусные гепатиты В и С в психиатрических стационарах. - В кн.: Гепатит В, С и D - проблемы диагностики, лечения и профилактики. Тез-сы 5 Российск. конф. М., 2003, с.38-40; 3. Гиясбейли С.Р. Серологические маркеры инфицирования возбудителями трансфузионных вирусных гепатитов и субклинические нарушения функции печени у онкологических больных. - Биомедицина, 2003, N.1, с.21-23; 4. Керимов А.А. Вирусные гепатиты в Азербайджане: аспекты изучения и перспективы борьбы. - Биомедицина, 2003, N.2, с.3-8; 5. Мамедбеков Э.Н., Шихалиев Я.Ш., Мамедов М.К. Деструктивный туберкулез легких в современных условиях: аспекты диагностики лечения и профилактики. Баку: Азернешр, 1997, 154 с.; 6. Мамедов М.К., Оруджли Р.Н., Рагимов А.А., Керимов А.А. Серологические маркеры инфекций, вызванных вирусами гепатитов В, С и G у доноров крови в Г.Баку. - В кн.: Гепатиты В, С и D - проблемы диагностики, лечения и профилактики. Тез-сы 4-й Российской научно-практ. конференци. М., 2001, с.216; 7. Обрядина А.П., Евстафьев В.И. Маркеры гепатитов В и С среди больных венерическими заболеваниями. - Новое в трансфузиологии, 1996, вып.14, с.57-60; 8. Овчинникова Е.Н., Сомова А.В., Бондаренко И.А. и др. Выявляемость маркеров гепатитов В и С у различных категорий доноров - Гематол. и трансфузиол., 2001, N.3, с.59; 9. Таги-заде Р.И., Ибрагимов З.Н. Серологические маркеры инфицирования вирусами гепатитов А, В и С и активность аминотрансфераз в сыворотке крови у детей и молодых жителей Нахчыванской Автономной Республики. - Биомедицина, 2003, N.2, с.23-26; 10. Jabiyev E., Agayev I. About importance of the viral hepatitis B and C among patients with chronic venereal infections. - Azerb. J. oncology., 1997, v.3, p.82-83; 11. Tagizade R., Ibrahimov Z., Kerimov A., Mamedova S. Serological markers of hepatitis B and C viruses among healthy blood donors and oncological patients in Nakhitchevan city. - In: Abst. 8-th Eur. Congr. Int. Soc. Blood Transfusion. Istanbul, 2003, p.55.

SUMMARY

Serologic markers of hepatitis B and C viruses infections among groups with high risk in Nakhchivan Autonomous Republic
Z.Ibrahimov, R.Tagi-zade, A.Kerimov

The communication contains results of serological testing of several high risk groups of Nakhchivan Autonomous Republic.

It was confirmed that frequency of HBsAg and antibodies to hepatitis C virus at "professional" blood donors, patients with diabetes mellitus, lung tuberculosis, sexually transmitted diseases, psychotic disorders, narcotic abusers and oncological diseases is bigger than at young citizens of this regions.

Поступила 19.03.2003

Иммунологические и дерматоглифические показатели у больных инфекционно-аллергической бронхиальной астмой

Г. К. Алиева, Х. М. Умудов

Азербайджанский государственный институт усовершенствования врачей им.А.Алиева, г.Баку, Азербайджанская Республика

Хотя бронхиальная астма известна еще со времен античности, смертность от нее до середины нашего века не привлекала внимания клиницистов. Проблема интенсивного роста заболеваемости и смертности начала беспокоить специалистов всего мира. Инфекционно-аллергическая бронхиальная астма (ИАБА) отличается еще более тяжелой формой, приводящей к ранней инвалидности (1, 3, 4).

Согласно данным литературы, неспецифические заболевания легких, в том числе, предрасположенность к бронхиальной астме, зависят от различных иммунодефицитных состояний (ИДС), а это, в свою очередь, действует на систему иммунитета. Хронические и рецидивные заболевания верхних дыхательных путей и легких (неспецифической бактериологической и вирусной этиологии), атопический дерматит, респираторный и другие аллергические болезни, выступающие под маской различных клинических синдромов, относятся к вторичным иммунодефицитам.

Изучение генетических маркеров в исследованиях, проведенных по изучению риска возникновения бронхиальной астмы, занимают особое место (5).

Кожа, помимо основной, выполняет и иммунологическую функцию. Эпидермис и дермато локализованные клетки обладают способностью распознавать антиген, модифицировать иммунциты и характер иммунного ответа. С этой точки зрения, с помощью широко используемого в биомедицинских исследованиях дерматоглифического метода целесообразно изучать и генетические особенности больных ИАБА.

Учитывая изложенное выше, мы попытались наряду с изучением иммунологических и генетических аспектов у больных ИАБА показать и особенности реактивности организма - у одних как следствие генетической детерминации предрасположенности к ИАБА, у других - как результат приобретенных признаков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. С помощью иммунологических методов и анализа дерматоглифических особенностей кисти обеих рук было обследовано 74 больных ИАБА, а также контрольная группа, состоящая из 60 здоровых лиц.

Для иммунологического обследования нами бы-

ли использованы: 1) методы определения в периферической крови процентов Т-лимфоцитов (идентифицируемых как лимфоциты, образующие розетки с эритроцитами - Эл-РОК) и двух их субпопуляций: Т-хелперов (Тх) и Т-супрессоров (Тс) и вычисления иммунорегуляторного индекса (ИРИ); 2) метод оценки функциональной активности нейтрофилов по их способности образовывать розетки с эритроцитами (Эн-РОК) и их фагоцитирующей активности (ФАН); 3) метод радиальной иммунодиффузии в агаровом геле для определения концентрации в крови иммуноглобулинов G, M и A и 4) метод определения уровня в крови циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) (6).

Дерматоглифические особенности кожи конца фаланг пальцев руки были изучены традиционным методом отпечатков с помощью типографской краски (2).

Кроме того, была рассчитана коррелятивная связь между результатами иммунологического и дерматоглифического обследования.

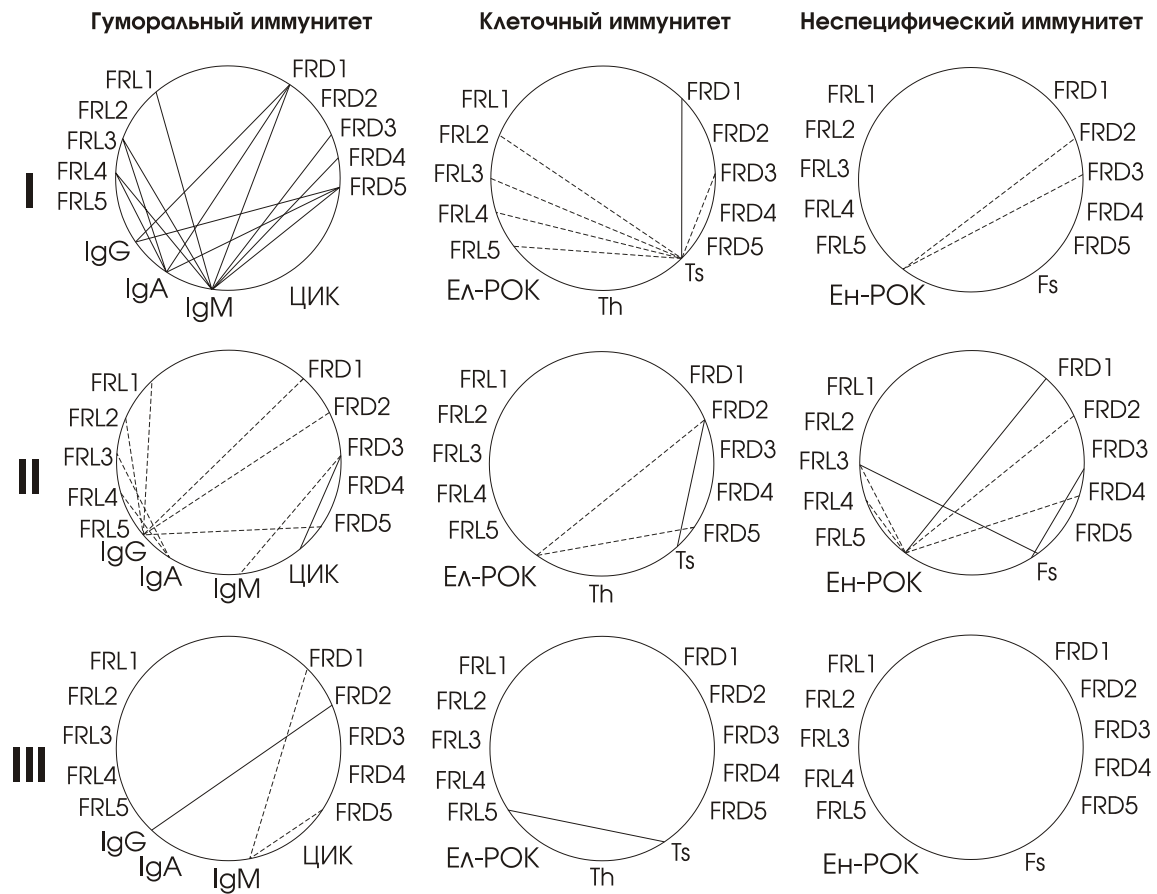
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Характер течения ИАБА и инфекционного процесса бронхолегочного аппарата очень часто определяются состоянием защитных систем организма - иммуногомеостазом и неспецифической резистентностью.

Из числа обследованных больных у 66 были выявлены признаки ИДС. В зависимости от выраженности ИДС эти больные были распределены на 3 группы: 1-я группа, с легкой формой ИДС насчитывала 11 (16,7%) больных, 2-я группа, со средне-выраженной формой ИДС состояла из 19 (28,8%) больных и 3-я группа, включала 36 (54,5%) пациентов с тяжелой формой ИДС.

У больных 1-й группы отмечалось повышение числа Тх ($p < 0,05$) и снижение числа Тс ($p < 0,01$). Количество Эн-РОН, отражающее уровень неспецифической резистентности, было повышено, а ФАН - снижена. Показатель ИРИ оставался в пределах нормы. Уровни IgG, IgA и IgM, а также ЦИК были повышены.

У больных 2-й группы показатель Эл-РОК, по сравнению с больными из 1-й группы, был снижен ($p < 0,05$). У них отмечалось повышение Тх ($p < 0,05$) и снижение Т-супрессоров ($p < 0,05$). Кроме того, у больных 2-й группы наблюдалось снижение Эн-РОК и ФАН, Уровень IgG у них был незначительно уменьшен, а уровень IgM ком-

Рис. Корреляция между показателями иммунитета и дерматоглифическими показателями двух рук в трех группах больных бронхиальной астмой



сплошные линии - прямые корреляции; пунктирные линии - обратные корреляции.

пенсаторно повышен. Это совпадало с данными, приводимыми в литературе (5).

У больных 3-й группы функциональная активность Т-клеток снижена. У этих же больных наблюдалась дисиммуноглобулинемия в виде резкого снижения уровня IgG и повышения количества ЦИК.

Приведенные выше данные указывали на то, что отмечаемые у больных ИАБА нарушения в иммунной системе зависят от степени выраженности ИДС. Факт повышения уровня Т-лимфоцитов и, в основном, субпопуляций Th, как известно, свидетельствует о повышении активности клеточного иммунитета. При этом, снижение субпопуляции Ts приводит к преобладанию эффектов Th и способствует развитию более сильного иммунного ответа, что у больных с аутоиммунной патологией имеет неблагоприятное прогностическое значение.

Как известно, в развитии как ИАБА, так и атопической бронхиальной астме важную роль играет и наследственная предрасположенность, четко прослеживаемая, примерно, в 15% случаев. Наши исследования, проведенные с помощью анкетного опроса, выявили, что наследственный фактор у обследованных больных

прослеживался в 33,3% случаев.

И, наконец, проведенные нами исследования показали, что некоторые показатели дерматоглифических особенностей изменялись в зависимости от степени выраженности ИДС. Наличие прямой и обратной коррелятивной связи между отдельными иммунологическими и дерматоглифическими показателями представлено на рисунке. Особенно, обращало на себя внимание наличие высокой коррелятивной связи величины ИРИ с показателем индекса Кемминса.

Таким образом, полученные нами результаты показали существование у больных ИАБА, корреляции между показателями иммунологического статуса и дерматоглифическими особенностями, что имеет важное значение при комплексном изучении этой патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адо А.Д., Новицкий В.В. Патологическая физиология. Из-во Томс. Университета, 1994; 2. Алиева Г.К. Дерматоглифические особенности у больных инфекционно-аллергической бронхиальной астмой. - В кн.: Мат-лы научно-практ. конф., посвященная 75-ти летию со дня рождения А.Т.Аббасова. Баку, 2003, с.15; 3. Домбаев М.Д. Хирургическое лечение инфекционно-аллергической формы бронхиальной астмы. - Автореф. дисс... канд. мед. наук. Баку, 1971; 4. Фараджева Н.А. Влияние галотерапии на иммунологическую реактивность организма при бронхиальной астме.

Учебно-методическое пособие. Баку, 1998; 5. Федосеев Г.Б. Руководство по пульмонологии. Л., 1984, 284с. 6. Яриллин А.А. Основы иммунологии. М.; Медицина, 1999.

SUMMARY

Immunologic and dermatoglyphic parameters at patients with infectious-allergic bronchial asthma
G.Aliyeva, Kh.Umudov

The authors examined a group of patients with infectious-allergic bronchial asthma with the

help immunologic methods and studied dermatoglyphic picture.

The results presented in paper demonstrated the existing direct and reverse correlation between some immunological parameters and dermatoglyphic specificities at patients with infectious-allergic bronchial asthma.

Поступила 11.09.2003

Резервные возможности миокарда левого желудочка при острых кишечных инфекциях у детей грудного возраста

И. А. Гараева

Азербайджанский Медицинский Университет,
г. Баку, Азербайджанская Республика

Острые кишечные инфекции у детей раннего возраста продолжают оставаться одной из актуальных проблем современной медицины. По данным Всемирной Организации здравоохранения в мире ежегодно болеют диареей более 1 млрд и умирают около четырех миллионов человек. Существенно, что 65-70% из них составляют дети в возрасте до 5 лет (3).

Как известно, при острых кишечных инфекциях у детей раннего возраста отмечаются расстройства гемодинамики, способствующие частым неблагоприятным исходам. Течение и исход заболевания во многом зависит от адаптационно-компенсаторных возможностей аппарата кровообращения и его функциональных резервов.

Целью настоящей работы явилось изучение резервных возможностей миокарда левого желудочка у детей грудного возраста с острыми кишечными инфекциями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. *Нами было обследовано 69 детей в возрасте от 1 месяца до конца первого года жизни с острыми кишечными инфекциями. Больные дети распределены на 3 группы в зависимости от степени дегидратации. 1-ю группу составили 9 детей с I степенью дегидратации, 2-ю группу - 27 детей со II степенью дегидратации, 3-ю группу - 33 детей с III степенью дегидратации. Контрольную группу составили 15 здоровых детей того же возраста.*

Наряду с клиническими обследованиями проведена электрокардиографические, эхокардиографические (ЭХО КГ) исследования. Эхокардиографическое исследование проводилось с помощью эхо-

кардиографа Sonalayer SSN-40A фирма Toshiba (Япония) по общепринятой методике в M-режиме (2, 4).

Оценивались следующие показатели эхокардиографии: конечный диастолический (КДР) и конечный систолический (КСР) размер левого желудочка, конечный диастолический (КДО) и конечный систолический (КСО) объемы левого желудочка, ударный объем (УО), фракция выброса (ФВ), степень укорочения передне-заднего диаметра левого желудочка (%S), скорость циркулярного укорочения волокон миокарда (V_{сф}), минутный объем (МО), общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС), частота сердечных сокращений (ЧСС).

Полученные данные обработаны методом вариационной статистики, достоверность между разными показателями оценены по непараметрическим критериям Уилкоксона-Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Проанализировав результаты, полученные в ходе выполнения настоящего исследования, мы установили, что в остром периоде заболевания острыми кишечными инфекциями у большинства больных детей изменяются электрическая и механическая деятельность миокарда.

Происходящие изменения характеризуются разносторонностью и в основном зависят от степени дегидратации и включения компенсаторных механизмов. С увеличением степени дегидратации увеличиваются нарушения обменных процессов в миокарде и уменьшается насосная функция левого желудочка.

Одновременно выявлена неоднородность

Таблица. Эхокардиографические показатели при различных вариантах гемодинамических нарушений у детей грудного возраста с острыми кишечными инфекциями

(M. min- M.max)

Показатели	Контрольная работа	Варианты						
		I	II		III			
		n=10	n=1	n=13	n=32	n=2	n=5	n=6
ФВ, %	69,2 (63-73)	69,0 (63-73)	78	75 (73-79)	62,0 (55-63)	52	59	48,5
КДР, мм	21,53 (19-24)	20,57 (18-24)	27	20,63 (19-23)	20,43 (18-23)	27	26	17
КСР, мм	13,87 (12-16)	13,14 (11-16)	15	12,50 (12-14)	14,08 (13-17)	20	19	13
КДО, мл	14,87 (11-18)	13,89 (10-20)	27	14,16 (11-18)	13,95 (10-18)	27	27	8,5
КЧО, мл	4,60 (3-6)	4,29 (3-7)	6	3,59 (3-5)	5,29 (4-8)	13	11	4,5
УО, мл	10,27 (8-12)	9,60 (7-13)	21	10,57 (8-13)	8,66 (6-10)	14	16	4,0
% S, %	35,5 (32-38)	36,0 (32-39)	40	39,0 (37-43)	31,10 (26-30)	26	30	24,0
Vef (окр/сек).	1,90 (1,60-2,10)	2,36 (1,60-2,79)	2,71	2,60 (2,00-4,3)	2,18 (1,59-3,08)	1,36	2,12	1,24
МО, мл/мин.	1279 (1080-1440)	1410 (850-2158)	3213	1477 (1028-2002)	1357 (996-1606)	2002	2656	460
ОПСС дин.сек.см ⁻⁵	4305 (3760-4900)	3844 (3520-4700)	1910	3944 (3560-4740)	4127 (3500-4800)	2797	2108	9586
ЧСС	125 (115-135)	148 (125-171)	153	146 (131-176)	161,0 (139-176)	143	166	115

Примечание: n - количество больных

изменений функционального состояния миокарда, особенно страдает насосная его функция. Эхокардиографический показатель насосной функции миокарда - фракция выброса (ФВ) - является более чувствительным (1).

Поэтому, в зависимости от изменения этого показателя выявлены 3 варианта: ФВ в первом варианте - в пределах нормы, во втором варианте - выше нормы, а в 3-ем варианте - ниже нормы (Таблица).

У 1/5 больных насосная функция миокарда и внутрисердечная гемодинамика остаются без изменений. У 1/5 больных увеличивается насосная и сократительная функция миокарда, при этом у большей части этих больных размеры сердечной камеры остаются в норме, а у остальной, небольшой части, претерпевают дилатацию. Нарастание фракции выброса свидетельствовало об увеличении насосной и сократительной способности миокарда для поддержания нормального кровоснабжения, то есть сердце пока в состоянии мобилизовать свои резервные возможности.

У 3/5 больных наряду со снижением насосной функции миокарда обнаружены дилатационные и дистрофические изменения. Выявленные изменения свидетельствуют о том, что у этих больных детей исчерпаны компенсаторные возможности миокарда.

Таким образом, проведенное нами комплексное изучение эхокардиографических показателей больных детей с острыми кишечными ин-

фекциями отражает затраченные компенсаторные или же резервные возможности миокарда, что позволяет определить степень поражения сердечно-сосудистой системы и провести соответствующую корректирующую терапию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зарецкий В.В., Бобков В.В., Ольбинская Л.И. Клиническая эхокардиография, М.: Медицина, 1979, с.248;
2. Клиническое руководство по ультразвуковой диагностике. Под ред. В.М.Митькова. М.: Видар, 1998, т.5., с.360;
3. Учайкин В.Ф., Руководство по инфекционным болезням у детей. М.: Медицина, 1998, с.809;
4. Фейгенбаум Х. Эхокардиография. Под ред. В.В.Митькова. М.: Видар., 1999., с.152.

SUMMARY

Reserve possibility of left ventricular myocardium in infants with acute intestinal infections *I.Garayeva*

For valuing the reserve possibility of myocardium of left ventricular 69 patients with acute intestinal infections (AII) and 20 healthy infants were examined with echocardiographic method.

n All infants there were 3 variations of disorders of pump function of myocardium (fraction of throw - FT). In 1-st variation - FT was normal at 1/5 part of patients, in 2-nd variation - FT was increased and in the 3-rd variation it was decreased in 3/5 part of tested infants. The majority of patients have emaciation, some of the patients have increased compensatory possibility of pump function of myocardium, only a little amount of patients do not have changes.

ИСТОРИЯ БИОМЕДИЦИНЫ

К 20-летию разработки полимеразной цепной реакции

В 2003 г. исполняется 20 лет с того времени, когда американский биохимик Кэри Мюллис описал принцип и успешно воспроизвел *in vitro* феномен амплифицированного ферментативного синтеза на матрице одной из нитей ДНК ее второй полинуклеотидной цепи *de novo*, который вошел в науку под названием "polymerase chain reaction" (PCR) - "полимеразной цепной реакции" (ПЦР).

Спустя 10 лет, когда стало очевидным, что ПЦР представляет собой чрезвычайно перспективный молекулярно-биологический метод, пригодный для решения целого ряда принципиально новых диагностических и, главное, аналитических задач в очень многих областях не только биологии, но и теоретической и клинической медицины, ее создатель был удостоен Нобелевской премии.

Создание этого метода стало закономерным итогом интенсивных научных изысканий, которые, после "расшифровки" в 1953 г. структуры ДНК, вели сотни ученых во многих странах мира. За 30 лет, которые разделяли это эпохальное открытие и появление идеологии амплифицированного синтеза нуклеиновых кислот, наука сделала поистине гигантские шаги. За эти годы была детально изучена биохимия нуклеиновых кислот, "прочитан" генетический код, открыт целый ряд ферментов, участвующих в процессе реализации генетической информации, раскрыты основные механизмы биосинтеза белков и его регуляции, идентифицированы ферменты рестрикции ДНК, позволяющие "нарезать" ее молекулу в строго определенных местах, и заложены основы генной инженерии, методы которой позволяли манипулировать отдельными молекулами ДНК и РНК *in vitro* и получать различные рекомбинантные молекулы.

Развитие получили и аналитические методы молекулярной биологии и, в первую очередь, так называемые гибридизационные технологии, интенсивное развитие которых, в конечном итоге, и привело к появлению идеи ПЦР, а в дальнейшем и целого семейства амплификационных методов анализа. Появлению гибридизационной технологии предшествовали три наблюдения.

В 1958 г. П.Доти установил, что при нагревании происходит денатурация ДНК, в основе ко-

торой лежит разрыв водородных связей между двумя полинуклеотидными цепями в ее молекуле и их отделение друг от друга. Этот процесс сопровождался изменением ряда свойств ее раствора (вязкости, оптической плотности и др.) и был назван "плавлением" ДНК.

В 1960 г. Дж.Мэрмар обнаружил, что тепловая денатурация ДНК обратима: при медленном охлаждении раствора денатурированной ДНК водородные связи между взаимодоплементарными цепями ДНК восстанавливаются и ее разделенные цепи вновь объединяются в исходную молекулу, т.е. происходит ренатурация ДНК.

В том же году Дж.Мэрмар и К.Шильдкраут продемонстрировали, что если смешать растворы двух различных денатурированных ДНК (например, полученных от различных бактерий одного вида), то цепи этих ДНК способны присоединяться друг к другу за счет возникновения водородных связей между отдельными, комплементарными друг другу, участками разных цепей. В образовавшихся "гибридных" двухцепочечных молекулах полинуклеотидные цепи связываются между собой не на всем их протяжении, а лишь между взаимодоплементарными участками. Этот феномен получил название "гетерогенной реконструкции ДНК", а позднее - "гибридизации ДНК".

Его дальнейшее изучение показало, что чем ближе друг к другу биологические виды, у которых берется ДНК для гибридизации, тем сильнее связываются между собой их одиночные цепи, а значит, тем большее количество водородных связей возникает между ними и тем протяженнее имеющиеся у них взаимодоплементарные (т.е. гомологичные друг другу) участки полинуклеотидных цепей.

Стало очевидным, что это свойство ДНК может быть использовано в аналитических целях: определив "степень гибридизируемости" двух гетерогенных одиночных полинуклеотидных цепей ДНК и прочность их связывания между собой, можно косвенно оценить и "долю" взаимодоплементарных участков в этих двух гетерогенных молекулах, называемую степенью их гомологии. Если степень гомологии между двумя гетерогенными одиночными цепями достаточно высока, то можно полагать, что организмы, из которых полу-

чены исходные ДНК, таксономически близки друг другу. Если же этот показатель приближается к 100%, то можно утверждать, что гибридизируемые молекулы принадлежат одному биологическому виду.

Именно эта посылка и послужила теоретической основой для создания на основе феномена молекулярной гибридизации ДНК аналитического метода, позволяющего с помощью известной ДНК ("ДНК-зонда") идентифицировать наличие в тестируемых пробах полностью или частично гомологичной ей макромолекулы и названного методом "молекулярной гибридизации" или "молекулярного зондирования".

Впервые метод гибридизации ДНК был успешно использован в 1961 г. Джоржем Уэстфалем и Ренато Дульбекко, которые с его помощью обнаружили геном онкогенного обезьяньего вируса SV-40 в геноме инфицированной им клетки.

Уже год спустя Сол Спигельман показал возможность гибридизации одиночной полинуклеотидной цепи ДНК с молекулой РНК, что существенно расширило круг аналитических задач, поддающихся решению с помощью этого метода.

В 1963 г. Э.Болтон и Б.МакКарти разработали простой радиоизотопный метод определения процента гомологичных последовательностей в гибридизируемых молекулах, основанный, во-первых, на введении радиоактивной "метки" в известную молекулу ДНК и, во-вторых, на фиксации разделившихся цепей тестируемой ДНК в застывающем агаре. При этом гибридизация происходила в полужидком агаре, а несвязавшаяся "меченная" цепь ДНК-зонда удалялась из агара промыванием. Измерив радиоактивность агара, можно было оценить какая часть ДНК-зонда связалась с фиксированной в нем цепью тестируемой ДНК. Предложенная в 1965 г. С.Спигельманом и Д.Джилспи иммобилизация ДНК-зонда на нитроцеллюлозных мембранных фильтрах еще больше упростила методику гибридизации. И, наконец, была разработана методика введения в состав ДНК-зонда с помощью реакции "ник-трансляции" (nicking-closing reaction), катализируемой эндонуклеазной рестриктазой реакции разрыва и последующей репарации, нуклеотидов, "меченных" радионуклидом фосфора, а чуть позднее и субстанциями, позволяющими регистрировать результат теста колориметрически.

Благодаря этим совершенствованиям, методика гибридизации значительно упростилась и нашла применение не только при решении научных вопросов, связанных с уточнением таксономии вирусов и бактерий, но и в диагностических целях и, в частности, для детекции сравнительно небольших по размеру вирусных нуклеиновых кислот. Например, уже в конце 70-х гг. она

стала использоваться при анализе структуры генома некоторых вирусов и даже в диагностике некоторых вирусных инфекций (гепатит В и др.).

После описания в 1974 г. Эдвардом Саузерном метода переноса хроматографически разделенных в геле олигонуклеотидов на тонкие мембраны (Southern's blot annalylis) была разработана высокоточная методика, получившая название - spot-гибридизации. Основанная на "обработке" ДНК-зондами полученных хроматограмм (в виде пятен) фрагментов ДНК, она позволяла оценивать число вирусспецифических участков в исследуемой ДНК.

Кроме того, для выявления ДНК вирусов была разработана методически менее трудоемкая и нашедшая широкое применение в диагностических исследованиях "точечная" или "dot-гибридизация", воспроизводимая на поверхности мембранного фильтра, на основе которой был создан и ряд коммерческих наборов для лабораторной диагностики целого ряда вирусных инфекций. Такие наборы, основанные на этом принципе и использовании в качестве "зонда" меченой радиоактивным фосфором клонированной вирусной ДНК, позволяли выявлять в исследуемом материале порядка 0,5 пг/мл, что в пересчете составляет, примерно, 150 тысяч молекул ДНК, т.е. обладали чувствительностью, превосходящую, примерно, в 100 раз таковую у иммуноферментного метода. Были созданы и тест-системы с аналогичными характеристиками, но основанные на протекании процесса гибридизации в жидкой фазе с последующим аффинным связыванием гибридизированных молекул на твердой фазе и детекции его по ферментативной активности.

Внедрение таких тест-систем в медицину началось с диагностики вирусных инфекций и привело к изменению семантики некоторых понятий и, к примеру, сегодня, говоря что у больного выявлена ДНК вируса - возбудителя той или иной, инфекции, мы понимаем это как выявление самого вируса. Применение методов гибридизации, отличающихся высокой специфичностью результатов (сопоставимой с таковой при применении иммуноферментного метода на основе моноклональных антител) в диагностическую медицину, ознаменовало начало современного этапа ее развития, а понятие "молекулярная диагностика", наряду с такими категориями как "молекулярная биология" и "молекулярная генетика", постепенно заняло прочное место в научной литературе и профессиональной лексике биологов и врачей.

Методы молекулярной диагностики основаны на индикации и идентификации в крови или других биожидкостях обследуемых лиц геномов (или их отдельных фрагментов) искомых вирусов: последние выступают как специфические "моле-

кулярные маркеры" инфицирования обследуемых лиц.

В то же время, внедрение методов гибридизации для изучения структуры генома, особенностей функционирования отдельных генов и, в итоге, выяснения механизмов генетической детерминации возникновения наследственных и некоторых соматических болезней человека тормозилось рядом технических трудностей, возникающих при работе с крупными молекулами ДНК эукариотов.

В первую очередь, проведение таких исследований неизменно сталкивалось с трудностью выделения клеточной ДНК в неповрежденном виде. Необычайно высокая диспропорция между толщиной (2 нм) и длиной (несколько метров) этой молекулы препятствовала выделению ее из клетки в интактном виде, даже при использовании самых щадящих методов: во всех случаях не удавалось предотвратить разрыва полинуклеотидной цепи в случайно расположенных точках. В результате препарат ДНК, полученный, к примеру, из 100 идентичных клеток, содержит 100 копий исследуемого гена, но все они оказываются в составе разных фрагментов, имеющих различную длину. Изучение же ДНК с помощью исследования отдельных ее коротких фрагментов (олигонуклеотидов), используемых в качестве зондов, также не решало проблемы, так как такая методология отличалась чрезвычайной трудностью, даже при полной автоматизации процесса.

Выход из создавшейся ситуации, по-существу тормозящей развитие исследований генома, наметился именно благодаря разработке принципов ПЦР - простого метода получения *in vitro* любой последовательности ДНК в течение нескольких часов в количествах, превышающих исходную в 100 млн раз.

Идеологическую основу ПЦР составляют: 1) принцип взаимной комплементарности полинуклеотидных цепей ДНК и 2) способность ДНК-полимеразы (специализированного фермента, открытого Артуром Корнбергом еще в 1955 г.) на матрице одной полинуклеотидной цепи ДНК "достраивать" ее вторую цепь, а также аналогичным образом восполнять недостающие фрагменты или образующиеся "бреши" в двойной спирали ДНК. При этом, синтез второй спирали, как и при естественном процессе внутриклеточной редупликации ДНК, осуществляется из "строительных блоков", функцию которых выполняют нуклеотиды (дезоксирибонуклеотидтрифосфаты).

В то же время, синтез новых полинуклеотидных цепей в процессе ПЦР отличался от ранее воспроизведенных *in vitro* синтезов по ряду особенностей.

Во-первых, амплифицируемая ДНК искус-

ственно, посредством тепловой денатурации, разделяется на две полинуклеотидные цепи, каждая из которых в дальнейшем служит амплифицируемой матрицей.

Во-вторых, амплифицируемый участок ДНК селективно обозначается (фланкируется) двумя "праймерами" - короткими (длиной в 20-30 нуклеотидов) олигонуклеотидными участками с известной последовательностью нуклеотидов.

Праймеры - семейство искусственно синтезированных олигонуклеотидов со строго заданной последовательностью звеньев, которые могут гибридизироваться лишь с определенными участками матричных цепей ДНК. Они и раньше использовались при изучении первичной структуры ДНК для разметки в ней нужных исследователю участков.

Праймеры, посредством водородных связей, сами прикрепляются к комплементарным участкам (гибридизируются с ними), расположенным на 3'-концах каждой из амплифицируемых одиночных цепей ДНК, и выступают в качестве "затравки" (стартовых блоков) для инициации последующего ферментативного синтеза недостающих полинуклеотидных цепей, причем, только на тех матрицах (цепях ДНК), которые обозначены праймерами. Именно последнее и обеспечивает высокую селективность амплификации.

В-третьих, "достройка" комплементарных матричной цепи ДНК полинуклеотидных цепей катализируется ДНК-полимеразой (ДНК-зависимой ДНК-полимеразой), которая вносится в реакционную систему *извне*. Такая "достройка" протекает в виде процесса удлинения праймеров (стартовых блоков) за счет последовательного присоединения к их 3'-концам новых и новых нуклеотидов, комплементарных нуклеотидам, расположенным напротив каждого из них в матричной цепи ДНК. Синтез происходит за счет наращивания все новых нуклеотидов вплоть до 5'-конца матричной цепи, с которой гибридизован праймер, а его продуктом становится фрагмент ДНК, равный по длине расстоянию между 5'-концами праймеров на матричной ДНК.

В-четвертых, повторяя описанный выше цикл, можно добиться экспоненциального увеличения копий ДНК и "размножить" (амплифицировать) нужные фрагменты ДНК до получения их в необходимом количестве. Это и составляет важнейшую особенность ПЦР - амплификацию синтеза полинуклеотидной цепи ДНК *de novo*, позволяющую в течение короткого промежутка времени получить миллионы копий необходимых участков матричной цепи ДНК, "отмеченных" избранными праймерами.

Процесс амплификации достаточно прост. Первоначально исходную ДНК нагревают до температуры "плавления", при которой ее поли-

нуклеотидные цепи разъединяются. Далее в реакционную смесь вносят необходимые праймеры и охлаждают ее - при этом праймеры гибридизируются с соответствующими участками обеих полинуклеотидных цепей. Затем в систему вносят достаточное количество нуклеотидов и ДНК-зависимую ДНК-полимеразу и поддерживают температуру на уровне величины, оптимальной для "работы" ДНК-полимеразы, при участии которой осуществляется полный синтез необходимого участка ДНК. В заключение цикла систему вновь нагревают до температуры плавления, что приводит к отсоединению вновь синтезированной копии от матрицы, которая при повторении цикла вновь может присоединить соответствующий праймер. Причем, при осуществлении второго цикла в качестве матриц, в свою очередь, могут функционировать и вновь синтезированные цепи. Таким образом, повторение циклов амплификации позволяет удваивать копии необходимых участков исходной ДНК в геометрической прогрессии по формуле $N=2^n$.

Однако, первоначально методика ПЦР была достаточно трудоемкой и включала внесение в реакционную смесь ДНК-полимеразы после каждого температурного цикла, поскольку этот фермент инактивировался при нагревании. Вскоре это затруднение было преодолено путем использования в реакции термостабильной ДНК-полимеразы, выделенной из бактерии *Thermus aquaticus*, обитающих в водах термальных источников (Taq-полимеразы). В отличие от ранее применявшейся для ПЦР ДНК-полимеразы, выделенной из *E.coli*, Taq-полимераза не теряет активности в процессе термоденатурации ДНК, а ее высокий температурный оптимум (75°C) ощутимо повышает специфичность реакции. Благодаря этому, необходимость замены этого фермента после каждого цикла отпала.

Трудоемкость воспроизведения ПЦР была преодолена благодаря созданию прибора, автоматически меняющего температурный режим по заданной программе - амплификатора или термосайклера (thermocycler).

С другой стороны, в первых тест-системах ПЦР, запатентованных уже в 1984 г. американской фирмой Cetus Corporation, в качестве "метки", с помощью которой идентифицировался продукт реакции, выступали радионуклиды, что создавало трудности, связанные с необходимостью применения радиометрической аппаратуры и обеспечения радиационной защиты персонала и окружающей среды. При этом использовался электрофорез, результаты которого документировались с помощью автордиографии. Вскоре на смену им "пришли" нерадиоактивные "метки" и, в первую очередь, флуорохромы. В этом случае детекция синтезируемого в реакции продукта стала осущес-

твляться путем разделения ампликонов (комплексов полимеразы и достраиваемой молекулы ДНК) в электрофорезе в геле и обработки электрофореграмм интеркалирующими флуоресцентными "зондами", вводимыми в состав ДНК. Позднее стали использоваться и ферментные "метки" ампликонов и субстратная визуализация результата.

В этих случаях полученные результаты документировались фотографически. В современных вариантах постановки ПЦР с этой целью используются системы, регистрирующие и анализирующие изображение геля в цифровом формате, что позволило отказаться от фотодокументации результатов, хотя не давало ощутимого повышения специфичности результата. Этого удалось добиться посредством использования для регистрации результатов ПЦР методов гибридизации, в основе которых лежат гибридизация амплифицированной ДНК с "меченым" олигонуклеотидным зондом и последующая детекция гибридного комплекса с помощью метода, позволяющего идентифицировать метку этого зонда. В зависимости от природы такой метки, в качестве которой могут использоваться флуорохромы, ферменты и гаптены, для ее детекции используется соответствующий метод детекции гибридного комплекса, например, флуориметрия, энзимометрия или методы иммуноферментного анализа. Сегодня уже есть основания полагать, что применение гибридных методов регистрации результатов ПЦР в медицинских исследованиях будет способствовать развитию более совершенных диагностических систем нового поколения.

Автоматизация процедуры ПЦР и ряд внедренных в ее методику усовершенствований значительно повысили производительность метода и обеспечили существенное расширение сферы его применения.

Необходимо отметить, что ПЦР как диагностический метод обладает рядом особенностей, придающих ему особую привлекательность.

Во-первых, современные варианты постановки метода ПЦР при наличии необходимых фланкирующих праймеров весьма просты и не требуют использования каких-то труднодоступных реагентов. Так, кроме праймеров достаточно иметь амплификатор с тремя фиксированными режимами температуры (96 градусов для денатурации ДНК, 55 градусов для отделения праймеров от матричной цепи и 72 градуса для синтеза комплементарных цепей искомой макромолекулы), а также нуклеотидтрифосфаты, из которых "строится" новая полинуклеотидная цепь. Продолжительность каждого цикла достигает нескольких минут.

Во-вторых, сегодня праймеры любого состава легко синтезируются с помощью современ-

ного оборудования. Многие из праймеров, широко используемых в диагностике производятся рядом фирм и химико-фармацевтических компаний. Кроме того, на современном этапе они могут быть не только приобретены, как коммерческие наборы, например, для иммуноферментного анализа, но и заказаны, если возникает необходимость решения каких-то нестандартных аналитических задач. Это освободило исследователей от решения задачи по конструированию праймеров требуемой специфичности.

В-третьих, ПЦР, в принципе, пригодна для амплификации не только геномной ДНК, но и вирусной РНК, что позволяет осуществлять поиск в исследуемом биологическом материале генов как ДНК-, так и РНК-содержащих вирусов. Это может быть достигнуто посредством двух основных подходов.

Первый из них получил название "обратно-транскрипционной ПЦР" или reverse-transcriptase PCR (RT-PCR) и основан на использовании в реакции дополнительного фермента "обратной транскриптазы" (РНКзависимой ДНК-полимеразы), катализирующей синтез одноцепочечной к-ДНК (ДНК-копии) на матрице вирусной РНК. Далее полученная к-ДНК амплифицируется с помощью Taq-полимеразы.

Второй подход предполагает использование для амплификации не Taq-полимеразы, а ДНК-полимеразы, еще в 1991 г. выделенной из термофильных бактерий *Thermus thermophilus* и способной в присутствии катионов марганца катализировать синтез на матрице РНК комплементарной ей одноцепочечной ДНК (к-ДНК). После завершения этапа синтеза к-ДНК, можно, добавив в реакционную среду катионы магния и удалив катионы марганца (путем добавления их хелаторов), с помощью этого же фермента (Tth-полимеразы) катализировать амплификацию (праймированный синтез) этой к-ДНК. Иначе говоря, указанный фермент на первом этапе процесса осуществляет, по сути, обратную транскрипцию, а на последнем - процесс амплификации полученной к-ДНК.

В-четвертых, исключительно ценной для диагностики особенностью ПЦР является то, что благодаря использованию в ПЦР определенных праймеров с известной последовательностью нуклеотидов, маркирующих лишь определенные молекулы ДНК, этот метод обеспечивает высокую специфичность, выражающуюся в строгой избирательности "копирования", в основе которого лежит способность праймеров гибридизироваться только с заданными нуклеотидными последовательностями. Иными словами, тестируемый материал, в котором находится ДНК, подлежащая копированию, может быть "загрязнен" другими веществами и, в том числе, други-

ми посторонними молекулами ДНК.

Более того, было показано, что в одной и той же реакции можно использовать несколько разных пар праймеров. В диагностике инфекций этот подход позволяет проводить скрининг сразу по нескольким возбудителям или одновременно определять наличие в пробе комплекса генетических факторов вирулентности и резистентности к антибактериальным и противовирусным препаратам. С его помощью можно исследовать и состояние нескольких аллельных генов у эукариотических организмов и, в том числе, у человека. Этот вариант постановки получил название мультипраймерной или мультиплексорной ПЦР.

В-пятых, ПЦР обладает исключительно высокой чувствительностью: в принципе, с ее помощью можно обнаружить и амплифицировать синтез с матрицы даже одной молекулы ДНК или РНК. Однако реальная чувствительность даже современных тест-систем ПЦР ниже, а ее порог достигает несколько сотен молекул ДНК в 1 мл биопробы. Во всяком случае, чувствительность ПЦР, примерно, в 1000 раз превосходит чувствительность обычной молекулярной гибридизации.

Наиболее высокой чувствительностью отличается, так называемая, "гнездовая" ПЦР (nested PCR). Основной особенностью такой ПЦР является то, что после первого цикла амплификации реакционную смесь переносят в другую лунку, в которую вносят пару праймеров, способных "узнавать" последовательности, расположенные внутри основного ампликона (т.е., в промежутке между участками, "отмеченными" первой парой праймеров, и затем, проводят второй цикл амплификации. Важнейшим преимуществом такой ПЦР является высокая чувствительность и отсутствие необходимости подтверждения специфичности результатов.

В то же время, перенос реакционной смеси из пробирки в пробирку сопряжен с увеличением количества ложноположительных результатов вследствие перекрестной контаминации проб продуктами амплификации.

В-шестых, продукты амплификации поддаются количественной оценке ("количественная ПЦР"). Так, с ее помощью можно определить "вирусную нагрузку" (viral load), т.е. концентрацию вирусов в крови, что, порой, имеет важное клиническое значение. Помимо нередко используемого в практике, по существу, полуколичественного метода "конечных разведений", существует несколько подходов, позволяющих количественно оценивать концентрацию вирусных нуклеиновых кислот в пробе.

Касаясь особенности этих подходов, надо отметить, что на течение ПЦР, как и любой протекающей *in vitro* биохимической реакции, оказывает влияние целый ряд факторов: инактивация фермента в ходе процесса, присутствие в сме-

си его ингибиторов, изменение концентрации реагентов и др.). Это может приводить к отклонениям от теоретически предсказываемой закономерности накопления продукта ПЦР, а значит и к конфигурации отражающей ее кривой.

Поскольку при построении калибровочных кривых очень сложно принять во внимание все возможные сторонние факторы, способные влиять на кинетику ПЦР, необходимы эталонные образцы (с известным количеством копий), которые, как и тестируемая ДНК, выступают в качестве реагента в ПЦР (стандартный контроль). Экстраполируя результаты их участия в ПЦР и учитывая идентичность условий амплификации стандарта и определяемой ДНК или РНК, нетрудно определить и количество копий матрицы, участвующей в реакции.

Решить эту проблему могут и методики, позволяющие учитывать основные параметры реакции в ходе самой ПЦР. Такие методики, получившие название "ПЦР в реальном времени" (real time PCR), позволяют регистрировать течение реакции по накоплению ее продуктов и строить калибровочные кривые по реальным процессам, происходящим с каждой конкретной пробой. Это достигается применением кинетической регистрации образования продуктов ПЦР за счет, как правило, использования специального зонда, связанными двумя флуорохромами с близкими максимумами поглощения таким образом, чтобы промежуток между ними позволял передавать первичный квант флуоресценции от одной молекулы к другой, генерирующей квант света с большей длиной волны. В этом случае амплифицируется не продукт, а квантовый сигнал, регистрируемый флуоресцентный сигнал прибором со спектральным разрешением анализируемого сигнала.

Анализ кинетики флуоресценции в реальном времени позволяет не только рассчитывать количество исходной ДНК или РНК, используемой в реакции амплификации, но и, детектируя влияние сторонних факторов, вносить необходимые поправки в получаемый результат.

И, наконец, в-седьмых, отметим, что с помощью ПЦР можно не только специфически амплифицировать определенную последовательность ДНК, но и с высокой точностью определить ее внутриклеточную локализацию. Этот вариант метода, получивший название "in situ PCR" (IS-PCR) оказался неоценимым как в исследовании латентных вирусных инфекций и экспрессии генов в клетке, так и при оценке эффективности новых лекарственных средств на клеточном и молекулярном уровне.

Необычайно большие диагностические и аналитические возможности ПЦР были раскрыты уже к началу 90-х гг. минувшего столетия. С ее помощью был решен целый ряд важных задач,

имевших важное общебиологическое и прикладное значение, только перечень которых занял бы многие десятки страниц.

В медицинских исследованиях внедрение ПЦР оказалось наиболее результативным в вирусологии, микробиологии, онкологии и медицинской генетике.

Всего за 2 года, начиная с 1988 г., были разработаны тест-системы для ПЦР-диагностики целого ряда вирусных, бактериальных и протозойных инфекций.

Однако сегодня очевидно, что ее значение в этих областях неравноценно.

Так, в бактериологии ПЦР лишь дополняет уже существующие методы, способствуя уточнению биологических свойств и таксономического положения возбудителей (включая точное определение видовой и подвидовой принадлежности изолятов) и обнаружению атипичных бактерий и трудно идентифицируемых другими методами биопатогенов (хламидии, микоплазмы). Поэтому считается, что применение этого метода оправдано лишь тогда, когда другие методы недостаточно эффективны, например, при диагностике урогенитальных хламидиозов и микоплазмозов, хеликобактериоза, для дифференциации вирусных и бактериальных пневмоний и др. Ее применение оправдано и при идентификации резистентности возбудителей к антибиотикам.

В вирусологии же ПЦР обрела прочный статус весьма ценного, а порой, и незаменимого метода. Более того, уже невозможно представить себе область современной вирусологии, где не используется ПЦР.

В зависимости от роли и диагностического значения ПЦР все вирусные инфекции можно условно подразделить на три группы:

1. Инфекции, при которых ПЦР является единственным методом диагностики. Это, в основном, трудно поддающиеся серологической диагностике латентно протекающие инфекции (ретровирусные инфекции, лентивирусные инфекции, герпетические, цитомегаловирусные и др. инфекции) и, в первую очередь, протекающие у иммунокомпрометированных лиц с депрессией продукции антител, а также инфекции, вызванные вирусами гепатита G, TTV и SEN.

2. Инфекции, диагностируемые с помощью, в основном, серологических методов, а ПЦР используется лишь для уточнения особенностей течения инфекционного процесса. Это большинство вирусных инфекций, для которых характерны частая хронизация инфекционного процесса и его субклиническое течение. Наиболее демонстративными примерами таких инфекций могут стать инфекции, вызванные ВИЧ и вирусом гепатита С, при которых отрицательные результаты серологических исследований далеко не всегда означают, что инфекция отсутству-

ет.

При первой из них ПЦР, позволяет выявить "дремлющий" вирус и контролировать латентную ВИЧ-инфекцию у инфицированных, особенно на ранних стадиях ее развития. При инфекции же, вызванной вирусом гепатита С, роль ПЦР особенно велика: она позволяет не только точно выставить этиологический диагноз, но и определить генотип вируса и оценить уровень "вирусной нагрузки", т.е. получить информацию, позволяющую осуществлять рациональный выбор тактики лечения больных и динамический мониторинг его эффективности.

3. Инфекции, при которых ПЦР используется как подтверждающий метод, позволяющий верифицировать или отвергнуть результаты серологических методов.

Это те вирусные инфекции, возбудители которых поддаются идентификации с помощью традиционных диагностических методов.

Разумеется, сказанное не относится к использованию ПЦР для решения научных задач, связанных с изучением биологии вирусов и углубленным исследованием патогенеза вирусных инфекций. С этой целью ПЦР может успешно использоваться при всех вышеперечисленных группах вирусных инфекций.

И, наконец, методы, основанные на ПЦР, сегодня остаются наиболее надежными "арбитражными" методами. Поэтому возможностями его применения должны быть обеспечены, по меньшей мере, научные учреждения национального ранга.

Однако, методы ПЦР-диагностики вирусных инфекций пока еще не могут считаться широко доступными для лабораторной службы практического здравоохранения, а целесообразность их применения в диагностических целях в каждом конкретном случае должна определяться, исходя из особенностей стоящей задачи, и рационально соотноситься с соображениями экономического характера и других обстоятельств.

Весьма перспективным применение методов ПЦР оказалось и в онкологии. Сегодня эти методы позволяют не только углубленно исследовать молекулярные механизмы канцерогенеза, но и решать конкретные диагностические задачи. Уже разработаны методы для выявления микрометастазов злокачественных опухолей и молекулярного типирования опухолей разного гистогенеза и лейкозов.

С помощью этих методов осуществляется идентификация и количественная оценка экспрессии отдельных генов, что имеет важное значение для оценки прогноза заболевания и индивидуализации подбора больных для лечения современными биотехнологическими препаратами.

Используя ПЦР, можно определить функциональное состояние онкогенов и генов-супрессоров (например, генов p16, p53 и др.), и тем самым количественно охарактеризовать относительный риск возникновения той или иной опухоли у конкретного индивидуума. Результаты таких исследований приобретают особо важное значение в случаях, когда фенотипические и генеалогические данные косвенно позволяют подозревать у него наличие выраженной предрасположенности к данному онкологическому заболеванию.

ПЦР-диагностика заняла важное место в пренатальной и постнатальной диагностике целого ряда наследственных заболеваний, а также в оценке состояния отдельных звеньев метаболического гомеостаза при некоторых соматических заболеваниях у человека.

Завершая наш краткий очерк, надо заметить, что изложенное не исчерпывает возможностей этих методов, тем более, что мы не затронули таких важных областей их применения, как криминалистика и судебно-медицинская экспертиза (молекулярная идентификация личности и определение видовой и индивидуальной принадлежности биообъектов), генной фармакологии и др.

Значение данного метода в развитии целого ряда современных отраслей биологии и медицины трудно переоценить даже сегодня. Надо особо подчеркнуть, что появление метода ПЦР на протяжении двух минувших десятилетий служило не только необычайно мощным стимулом к дальнейшему развитию методологии молекулярных исследований, но и во многом изменило идеологию этих изысканий, приведя к появлению целой группы подходов к манипулированию с носителями генетической информации и разработке большого семейства амплификационных методов, коренным образом изменившим лицо современной биомедицины.

С. М. Мамегова
Медицинский центр "Евромед", г. Баку