

УДК 616.33-002.44-022:579.835.12(575.2)(04)

## ИММУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГАСТРИТОМ ТИПА В, ИНФИЦИРОВАННЫЙ CAG A ПОЗИТИВНЫМ ШТАММОМ H.PYLORI

*М.И. Дворкин*

При обследовании 83 больных с хеликобактерным гастритом В в фазе обострения у 67 больных верифицирован CagA+ штамм НР, у 16 CagA -штамм.

*Ключевые слова:* Хеликобактерный гастрит; штаммы CagA+, CagA-; иммунологические Т- и В-тесты, фагоцитарная активность моноцитов и нейтрофилов; иммунологический дисбаланс при CagA+ и CagA-штаммах НР инфицированных больных хроническим гастритом.

Клинические проявления хеликобактерной инфекции во многом зависят от генетических факторов [1]. *Helicobacter pylori* (НР) – грам-трицательная скрученная S-образная бактерия, её особенностью является способность продуцировать уреазу, расщепляющую мочевину с образованием аммиака, который защищает бактерию от солянокислого желудочного сока [2, 3].

Доказана этиологическая роль этого микроба в патогенезе гастрита В, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки и других заболеваний желудочно-кишечного тракта [4].

В последние годы все большее внимание привлекают мутантные штаммы *H. Pylori* (НР), обладающие высокой вирулентностью. Цитотоксические свойства этих штаммов во многом связаны с содержанием Cag A, Vac A и Ice A антигенов [5, 6]. По мнению ряда авторов штаммы НР, содержащие Cag A и Vac A антигены, являются маркерами гастродуоденальной патологии. Следует отметить, что эти штаммы выявляют нередко при ассоциированном хроническом гастрите и даже у практически здоровых бактерионосителей. [7 – 10]. Поэтому Я.С. Циммерман считает, что развитие гастродуоденальной патологии оболочки желудочно-кишечного тракта мутантными штаммами НР (Cag A, Vac A), но и от резистентности организма [10, 11]. Выявлено, что вирулентность *H. Pylori* во многом связана со способностью мутантных штаммов Cag A и Vac A выделять токсины [5]. Цитотоксин Vac A обладает способностью образовывать поры в цитоплазматических мембранах клеток. Этот ген присутствует во всех хеликобактерных штаммах,

но только в 50% случаев продуцирует активный вакуолизирующий токсин [7], способный подавлять реакции клеточного иммунитета.

По мнению Я.С. Циммермана [10], Cag A – антиген не участвует в патогенезе язвенной болезни и поэтому не может быть индикатором гастродуоденальных язв. Этот антиген определяет степень активности воспалительного процесса в слизистой желудка, он присутствует примерно у 50–60% штаммов хеликобактерий и определяет патогенность возбудителя [12]. Наличие генов цитотоксичности позволяет объяснить, почему инфицирование НР проявляется у различных больных неодинаковой клинической картиной и почему у большинства инфицированных лиц клинические проявления болезни не развиваются [13].

Показано, что анти Cag A – антитела присутствуют у больных язвенной болезнью в значительно более высоком титре, чем у больных с неязвенной диспепсией и бессимптомно здорового контроля [14]. Этот штамм выявляется и у лиц, перенесших в прошлом язвенную болезнь [15]. Выявлено, что этот тест не имеет клинического значения для предсказания тяжести заболевания [13].

Целью нашего исследования являлось изучение влияния Cag A+ позитивного штамма НР на состояние иммунного статуса больных хроническим гастритом В.

**Материалы и методы.** Обследовано 83 больных хроническим гипертрофическим гастритом типа В (фаза обострения). Диагноз верифицирован клинически и эндоскопически с гистологическим исследованием биоптатов слизистой оболочки желудка. Возраст больных от

Таблица 1

Лимфоциты периферической крови больных хроническим гастритом, инфицированных Сад А + позитивным штаммом *Helicobacter Pylori*

Показатель	Контрольная группа n=46	Больные хроническим гастритом	
		Сag A- N=16	Сag A+ N=67
Сд 3 %	40,4±3,2	44,13±1,72*	39,81±1,108*
Сд 19 %	22,2±2,1	22,63±1,18*	18,71±0,91*
Сд 4 %	31,3±2,8	23,06±1,05*	19,26±0,97*
Сд 8 %	11,6±1,1	18,88±0,88*	17,91±0,77*
Сд 16 %	5,2±0,3	16,75±0,94*	15,36±0,93*
ИРИ %	0,96±0,06	1,261±0,07*	1,48±0,21*
ЦИК г/л	180±15	145,81±0,51*	130,13±5,63*
IgM г/л	0,6±0,15	1,4±0,2*	1,49±0,15*
IgG г/л	8±3	14,17±1,51*	16,88±1,14*

Здесь и в табл. 2\* достоверные различия по сравнению с контрольной группой ( $P < 0,01$ ), у – Сag А + с показателем; Сag А – ( $P < 0,01$ ).

Таблица 2

Фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов периферической крови больных хроническим гастритом, инфицированных Сag А + позитивным штаммом *Helicobacter Pylori*

Показатель	Контрольная группа n=46	Больные хроническим гастритом	
		Сag A- N=16	Сag A+ N=67
Нейтрофилы			
Фп %	61,1±2,1	50,38±2,46*	52,88±2,58*
ФЧ %	4,2±0,2	2,35±0,17*	2,35±0,87*
ИРИ %	2,8±0,26	1,69±0,48*	1,21±0,07*
НСТ тест %	76,8±1,8	82±1,12*	83,28±0,74*
СЦК %	0,93±0,03	1,33±0,47*	1,31±0,07*
Моноциты %			
ФП %	41,6±0,9	44,88±1,78*	42,94±2,19*
ФЧ %	2,2±0,1	1,76±0,142*	1,58±0,07*
ИФИ %	0,96±0,06	0,84±0,75*	0,735±0,04*
НСТ тест моноцит %	11,4±0,8	75,5±1,605*	76,67±1,01*
СЦК %	0,13±0,07	1,058±0,063*	1,115±0,05*
Адгезия %	50,2±1,7	19,47±1,48*	16,24±1,36*
Распластывание %	32,4±1,1	11,65±1,11*	10,87±0,612*
Сил-лизосом %	282,4±4	316,19±18,34*	322,67±12,6*

СЦК – средний цитотоксический коэффициент; ИРИ – иммунорегуляторный индекс (СД4/СД8)\*, Цик – циркулирующие иммунные комплексы

25 до 55 лет, мужчин 33, женщин 50. Давность заболевания до 5 лет – 18 больных, 6–10 лет – 30, 11–15 лет – 30, более 15 лет – 5 больных.

Обследованные больные по характеру инфицированности Сад А были разделены на две группы. Больные первой группы были инфици-

рованы Сад А+ позитивным штаммом *H. Pylori*. Больные второй группы не содержали такого штамма (Сад А-).

Детекция *H. Pylori* проводилась с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Использовался набор для проведения ПЦР с примерами

специфичными для генов Саg А + *H. Pylori*, 72 из 88 больных хроническим гастритом В были инфицированы Саg А + штаммом НР, у 16 больных антиген Саg А не выявился. Исследованию подвергали сыворотку и клетки крови в утренние часы, натощак.

Для оценки иммунного статуса использовались тесты, позволяющие судить о состоянии Т и В-звеньев иммунитета и фагоцитарных реакциях мононуклеарных и полинуклеарных лейкоцитов. Фенотипирование лимфоцитов проводилось методом непрямой поверхностной флуоресценции с помощью моноклональных антител «Сорбент» (Москва). Использовались моноклональные антитела для идентификации СД3 (Т-лимфоциты), СД4 (Т-хелперы), СД 8 (цитотоксические Т-лимфоциты), СД 19 (В-лимфоциты), СД 16 (НК-клетки). Концентрацию сывороточных иммуноглобулинов (А, М, G) определяли методом радиальной иммунодиффузии.

Оценку фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофилов периферической крови проводили с монодисперсными частицами латекса по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ), интегральному фагоцитарному индексу (ИФИ), реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест).

Исход фагоцитоза моноцитов определяли по состоянию кислородозависимых систем бактерицидности с помощью НСТ-теста и суммарного индекса люминесценции лизосом (СИЛ). Кроме того, исследовали адгезию и распластывание моноцитов, характеризующих состояние наружной цитоплазматической мембраны [16, 17]. Результаты анализов подвергались сравнению с региональной иммунологической нормой [18].

**Результаты и их обсуждение.** Данные исследований (табл. 1 и 2) показали, что для больных хеликобактерным гастритом В, инфицированных Саg А+ позитивным штаммом *H. Pylori*, характерно снижение продукции Т-хелперов (СД 4), которые обеспечивают совместно с макрофагами включение В-лимфоцитов в иммуногенез. Функциональная недостаточность этих клеток сочеталась с активацией Т-цитотоксических клеток (СД 8), которым присущи супрессорные свойства. Иммунорегуляторный индекс у таких больных, отражающий соотношение СД4 с СД8, был снижен относительно соответствующих данных контрольной группы практически здоровых лиц ( $P < 0,01$ ). Существенное снижение содержания в крови В-лимфоцитов (СД 19) сочеталось с интенсификацией синтеза иммуноглобулинов А, М, G.

Наши исследования свидетельствуют, что у больных хроническим гастритом, инфицированных Саg А+ позитивным штаммом *H. Pylori*, возрастает в общей циркуляции содержание НК-клеток (СД 16+), обладающих цитотоксическим действием, которое относится к факторам неспецифической реактивности организма. Эти клетки, как известно, обладают свойством неиммунного цитолиза, они разрушают клетки – мишени без предварительного контакта с антигеном.

В тесной связи с лимфоцитарным звеном иммунитета функционирует система мононуклеарных фагоцитов, которая участвует в презентации антигена иммунокомпетентными клетками.

У больных Саg А+ хеликобактерным гастритом отмечалось снижение интегрального фагоцитарного индекса за счет фагоцитарного числа, отражающее недостаточность фагоцитарной функции мононуклеотидов.

Известно, что исход фагоцитоза зависит от состояния кислородозависимых систем бактерицидности (НСТ-тест, СЦК). У обследованной группы больных обнаружена активация кислородозависимых механизмов бактерицидности по сравнению с контролем ( $P < 0,05$ ).

Несомненно важной характеристикой фагоцитов является состояние их наружной цитоплазматической мембраны. При изучении состояния этой структуры выявлено существенное снижение способности этих клеток к адгезии и распластыванию.

В том же направлении менялась фагоцитарная активность нейтрофилов. Все это свидетельствует о дисфункции факторов иммунной защиты у больных хеликобактерным гастритом, инфицированных Саg А + позитивным штаммом *H. Pylori*.

В рамках изучаемой проблемы нами было проведено сопоставление показателей иммунного статуса у больных хроническим гастритом, инфицированных токсигенным Саg А + и не токсигенным Саg А – штаммами *H. Pylori*. Существенной разницы в величине сопоставляемых тестов не выявлено.

Известно, что токсигенные *H. Pylori* (Саg А+) являются важными, но не единственными факторами, влияющими на состояние иммунитета.

Выявлено, что Саg А + штаммы могут сосуществовать с Саg А – штаммами [19]. Доказано, что специфическими факторами вирулентности *H. Pylori* являются не только Саg А +, но Vac А +, выделяющий вакуолизирующий цитотоксин [5, 20].

В настоящее время штаммы *H. Pylori* подразделяют на 4 серотипа в зависимости от выработки микроорганизмами цитотоксина Vac A и ассоциированного белка Cad A [21]. Не исключено, что выявленное снижение иммунитета в сопоставляемой Cad A – группе также имеет токсигенную природу. Оценка иммунных сдвигов при разных штаммах НР имеет важное прогностическое значение и актуально для подбора адекватной терапии, но этот вопрос требует специального изучения.

### Литература

1. Макаренко Е.В. Генетические факторы патогенности *Helicobacter Pylori* // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2004, №3. – С. 78–83.
2. Кожанов М.Г. *Helicobacter pylori*: роль в развитии гастродуоденальных заболеваний и методы диагностики // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999, №5. – С. 52–55.
3. Akhiani A.A. The role of type-specific antibodies in colonization and infection by *Helicobacter pylori* // *Curr Opin Infect Dis.* – 2005, jun; №18(3). – P. 223–227.
4. Фадеенко Г.Д. Инфекция *Helicobacter Pylori*: Итоги 20-летнего изучения её патогенности // *Вич Харьковск. нац. ун-ту*, 2004, №614. – С. 115–118.
5. Perez-perez I., Peek R.M., Legath A.Y. et al. The role of Cad A status in gastric and extragastric complications of *Helicobacter pylori* // *J. Physiol. Pharmacol.* – 1999. *Gec* 50(5). – P. 833–845.
6. Циммерман Я.С. Язвенная болезнь и проблемы *Helicobacter Pylori* – инфекции: новые факты, размышления, предложения // *Клиническая медицина.* – 2001, №4. – С. 67–70.
7. Stepheus Y.C. et al. Cad A status and Vac A genotype *helicobacter pylori* and peptic ulcer disease // *Eur. J. Gastroenterol., Hepatol.* – 1998, № 10. – P. 381–384.
8. Reytrat J.M. et al. Jowards deciphering the *Helicobacter pylori* cytotoxin // *Mol. Microbiol.* – 1999, №34(2). – P. 197–204.
9. Циммерман Я.С. Дискуссионные вопросы медикаментозного хирургического лечения язвенной болезни // *Клиническая медицина.* – 2002, №7. – С. 64–68.
10. Циммерман Я.С., Михайлева Е.Н. Состояние иммунной системы у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и влияние на неё современной терапии и иммуномодулирующих средств // *Клиническая медицина.* – 2003, №1. – С. 40–44.
11. Щербатов П.Л. Эпидемиология инфекции *Helicobacter Pylori* // *Российский журнал гастроэнтер., гепатол.* – 1990, №2. – С. 37–40.
12. Graham D.J., Yamaoka J. H. *Pylori* and Cad A: relationships with gastric cancer, duodenal ulcer and its complications // *Helicobacter.* – 1998, Sept. №3(3). – P. 145–151.
13. Krausse R., Garten L., Harder J. et al. Clinical relevance of Cad A specific antibodies related to Cad A status of *Helicobacter pylori* isolates using immunofluorescence test and PCR // *Infection.* – 2001, May-June, № 29(3). – P. 154–158.
14. Cing C.K., Wong B.C., Kwok E. et al. Prevalence of Cad A bearing *Helicobacter Pylori* strains detected by the anti-cad A assay in patients with peptic ulcer disease and in controls // *Am. J. Gastroenterol.* – 1996, May, № 91(5). – P. 949–953.
15. Havlasob J., Bures Y., Reychri S. et al. *Helicobacter pylori* Cad A antigen antibodies // *Cas. Lek Cesk.* – 1998, june. № 137(13). – P. 404–409.
16. Соколов В.В., Рендель Э.И. Морфофункциональные исследования моноцитов, как метод оценки состояния системы мононуклеарных фагоцитов: Методические рекомендации. – М., 1983. – С. 13.
17. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов. – М., 1984 – 252 с.
18. Кутаев М.И., Собуров К.А. Региональные нормы показателей иммунитета и иммуногенетические маркеры у горного населения Кыргызстана. – Бишкек, 2009. – 148 с.
19. Ющук Н.Д., Маев И.В., Гуревич К.Г. Иммунитет при хеликобактерной инфекции // *РЖГГК.* – 2002, №3. – С. 37–45.
20. Jokic – Milutinovic A., Wes J., Jodorovic V et al. Anti-Cad A and anti-Vac A antibodies in *Helicobacter pylori* – infected patients with and without peptic ulcer disease in Serbia // *J. Gastroenterol.* – 2004, March № 39(3). – P. 222–226.
21. Пасечкинов В.Д., Чуков С.Е., Правдина И.А. Использование блот-анализа в диагностике *H. Pylori* ассоциированной патологии гастродуоденальной зоны // *Рос. журнал гастроэнтер., гепат., колонопроктологии.* – 2000. Т.10, №2. – С. 63–65.