

## КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ СДВИГИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГАСТРИТОМ И ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ОБСЕМЕНЕННОСТИ HELICOBACTER PYLORI

*М.И. Дворкин*

Проведено сопоставление степени обсемененности слизистой оболочки желудка *Helicobacter pylori* и особенностей функционирования иммунной системы у больных хеликобактерным гастритом и язвенной болезнью желудка. Выявлена зависимость фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофилов от степени инфицированности организма *Helicobacter pylori*.

*Ключевые слова:* хеликобактерный гастрит; фагоцитоз; Т-хелперы; хеликобактерное обсеменение.

*Helicobacter Pylori* (HP) является грамм-отрицательной спиральной бактерией, которая заселяет желудок человека, вызывая гастриты, язвенную болезнь или рак желудка. Название бактерии происходит от слов “пилори”, указывающей на место обитания в желудке, и “хелико” – спиралеобразная форма. HP является причиной высокого процента морбидности в развивающихся и развитых странах, она внедряется через слизистую желудка в подслизистую, обладает эффектом “колонизации”, заселяя рядом расположенные органы (поджелудочная железа, печень, билиарная система, кишечник) [1–3]. Эта бактерия выживает в кислой среде желудка, стимулируя местные и системные реакции организма [4].

Инфекция HP распространяется путем передачи от человека к человеку. Будучи условно патогенным микробом из рода латентно-хронических инфекций, она проявляет свое патогенное действие при нарушении равновесия “микроб – хозяин”, провоцируя иммунный дисбаланс на фоне вторичного (приобретенного) иммунодефицита [5–7].

Данные о состоянии Т- и В-звеньев иммунитета, системы мононуклеарных фагоцитов и нейтрофилов при хеликобактерной инфекции весьма разноречивы. Не всегда верифицируется достаточно четкая связь между степенью иммунологических сдвигов и клиническими проявлениями хеликобак-

терной болезни. Известно, что значительная часть населения иницирована хеликобактерной инфекцией, но далеко не у всех из них развивается болезнь [8, 9].

Целью настоящего исследования являлась оценка функционирования иммунной системы у больных с хеликообусловленным гастритом и язвенной болезнью желудка в зависимости от степени обсемененности слизистой HP.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находились 221 больной хеликобактерной болезнью, которые были разделены на две группы. Первую группу составили 175 больных с изолированным *H.pylori*-ассоциированным гастритом. Во вторую группу вошли 46 больных HP-ассоциированным гастритом в сочетании с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. Верификация диагноза проводилась на основании клинического обследования с помощью неинвазивного Хелик-теста и эндоскопически с гистологическим исследованием биоптата на степень микробного обсеменения.

В рамках изучаемой проблемы нами проводилось исследование состояния иммунной системы у больных хеликобактерным гастритом В и язвенной болезнью желудка в зависимости от степени их обсеменения хеликобактерной инфекцией. Оценка степени обсемененности проводилась эндоскопически по А.И. Бондарю. Подсчет HP выполнялся

в обычных мазках, взятых из пяти разных мест желудка (биоптаты), в которых определялось состояние слизистой оболочки, очаги некроза и степень обсемененности.

При первой степени обсемененности НР в мазке выявлялось до 20 микробных тел, при второй степени – 21–40, при третьей степени – 41–60, при четвертой степени – свыше 60 микробных тел. Чувствительность этого метода окраски по Романовскому – Гимзе составляет 86–99 % при специфичности 86–95 % [10].

Среди больных хроническим гастритом было 78 мужчин и 97 женщин в возрасте от 25 до 55 лет и выше. Наибольшее число обследованных было в возрасте 26–55 лет (70,2 %). В группе больных язвой желудка и двенадцатиперстной кишки мужчин было 28, женщин 18 в возрасте от 25 до 55 лет и более. Наибольшее число обследованных было в возрасте от 36 до 55 лет и выше (56,5 %).

В анамнезе заболеваний хеликобактерной болезнью нередко отмечались семейные контакты с больными хеликобактериозом. Заражение в этих случаях могло возникать при приеме пищи и через поцелуи – фекально-оральным и орально-оральным путями. Резервуаром инфекции являлись близкие родственники с хеликобактерной инфекцией.

При хроническом гастрите В (175 чел.) выявлялись внутрисемейные контакты с 96 больными хроническим гастритом (55 %) и 73 больными язвенной болезнью (42 %). При язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (46 чел.) внутрисемейные контакты были с 14 больными хроническим гастритом (30 %) и 27 больными язвенной болезнью желудка (59 %).

Иммунологические исследования включали изучение у больных хроническим гастритом В и язвенной болезнью желудка Т- и В-звеньев иммунитета, системы мононуклеарных фагоцитов и фагоцитарных реакций нейтрофилов.

Исследованию подвергали периферическую кровь больных, взятую натощак в утренние часы. Результаты анализов подвергались сравнению с региональной иммунологической нормой [11].

Выделение лимфоцитов из крови проводили в градиенте плотности фикал-верографина, их фенотип определяли методом непрямой поверхностной иммунофлуоресценции с помощью моноклональных антител (ООО “Сорбент”, г. Москва). Использовали укороченную панель моноклональных антител для идентификации маркеров: СД 3 (Т-лимфоциты), СД 19 (В-лимфоциты), СД 4 (Т-хелперы), СД 8 (цитотоксические Т-лимфоциты). Концентрацию основных классов сывороточных иммуноглобулинов

(IgA, IgM, IgG) определяли с помощью метода радиальной иммунодиффузии набором моноспецифических сывороток.

Фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови оценивали в тесте с монодисперсными частицами латекса по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ), интегральному фагоцитарному индексу (ИФИ) и реакции восстановления нитросинеготетразолия (НСТ-тест).

Для оценки фагоцитарной активности моноцитов определяли в тесте с монодисперсными частицами латекса фагоцитарный показатель, фагоцитарное число, интегральный фагоцитарный индекс. Исход фагоцитоза определяли по состоянию кислородзависимых и кислороднезависимых систем бактерицидности с помощью нитросинего тетразолиевого теста (НСТ-тест) и суммарного индекса люминесценции (СИЛ) лизосом моноцитов. Кроме того исследовали адгезию и распластывание моноцитов, характеризующих состояние их наружной цитоплазматической мембраны [7].

Полученный материал подвергался автоматизированной статистической обработке с использованием прикладной программы SPSS11.0. с определением критерия достоверности по Фишеру – Стьюденту.

**Результаты и обсуждение.** Как видно из таблицы 1, у больных хроническим гастритом В 1-й степени обсемененности НР отмечается достоверное, по сравнению с контролем, увеличение в общей циркуляции апоптозно настроенных лимфоцитов (СД95), угнетение Т-хелперов (СД4), повышение уровня киллеров (СД 16), синтеза IgA, М, G и при снижении уровня циркулирующих иммунных комплексов ЦИК.

Отмечается также снижение поглотительной способности нейтрофилов (ФП, ФЧ, ИФИ) при активации кислородзависимых систем бактерицидности (НСТн и СЦКн). Со стороны моноцитов у таких больных при увеличении СИЛ лизосом подавлены адгезия и распластывание.

При хроническом гастрите В 2-й степени обсемененности (таблица 1) отмечается однонаправленная картина иммунных сдвигов, но отсутствует апоптозная настроенность лимфоцитов. Выражена дисфункция моноцитарного звена фагоцитоза (ФП, ФЧ, ИФИ).

У больных хроническим гастритом В 3–4-й степеней обсемененности при однонаправленных иммунных сдвигах относительно предыдущих групп исследований отмечается усиление дисфункции лимфоцитарного, моноцитарного и нейтрофильного пула клеток.

Таблица 1 – Сопоставление обсемененности НР и иммунных сдвигов у больных хроническим гастритом В

Показатели	Контроль, здоровые лица	Хр. гастрит 1-й ст., n = 12	Хр. гастрит 2-й ст., n = 25	Хр. гастрит 3–4-й ст., n = 41
СДЗ	40,4± 3,2	42,17+1,63	40,4+1,51	42,24+1,25
СД19	22,2±2,1	21,75+1,89	21,54+1,39	22,15+1,10
СД95	18±4	21,67+1,5*	16,45+1,18~	20,83+1,19
СД4	31,3±2,8	22,43+1,72*	21+1,17*	21,12+0,96*
СД8	11,6±1,1	19,58+1,47*	17,77+0,9*0	19,66+0,85*
СД16	5,2±0,3	17,83+1,95*	18,15+1,32*	15,73+0,2*
ИРИ	0,96±0,06	1,24+0,14	1,31+0,15*	1,16+0,056*
ЦИК	180±15	138,92+5,55*	135,92+7,1*6	126,93+5,91*
IgA	0,9±0,2	2,4+0,4*	1,54+0,262*	3,2+0,80*
IgM	0,6±0,15	1,150+0,*25	1,183+0,19*	1,27+0,17*
IgG	8±3	16,16+2,6*1	11,89+1,48*	15,58+1,33*
ФПн	61,1+2,1	52,08+1,59*	53,52+1,71*	49,56+1,53*
ФЧн	4,2+0,2	2,96+0,18*	2,03+0,18*	2,57+0,14*
ИФИн	2,8+0,26	1,54+0,09*	1,33+0,15*	1,33+0,09*
НСТн	76,8+1,8	85,33+1,18*	80,60+1,29*	80,49+1,86*
СЦКн	0,93+0,03	1,37+0,07*	1,18+0,047*	1,31+0,046*
ФПм	41,6+0,9	45,08+1,67	44,0+1,18*	44,17+1,10*
ФЧм	2,2+0,1	2,10+0,14	1,44*+0,088~	1,6+0,1*
ИФИм	0,96+0,06	1,00+0,08	0,66*+0,59~	0,74+0,05*
НСТм	11,4+0,8	80,0+1,63*	24,79*+1,43~	73,83+1,33*
СЦКм	0,13+0,07	1,13+0,06*	1,07+0,06*	1,01+0,036*
Адгезия, м	50,2+1,7	24,25+2,23*	20,08+1,79*	22,54*+1,41~
Распластывание, м	32,4+1,1	13,32+1,49*	11,03+0,73*	11,15*+0,66~
СИЛ лизосом	282,4+5,9	345,58+30,24*	291,4+15,63	332,51*+15,07~

Примечание: н – показатели нейтрофилов; м – показатели моноцитов; \* – достоверные различия по сравнению со здоровыми лицами; ~ – достоверные различия по сравнению с хроническим гастритом В.

Таким образом, хронический гастрит В при всех степенях обсемененности НР характеризовался в целом неполноценностью Т-хелперного звена иммунной защиты (СД4) при активации супрессорной активности цитотоксических Т-лимфоцитов (СД8) и возрастании содержания НК-клеток (СД16) в общей циркуляции, которым присущи цитотоксические свойства (неиммунный цитолиз).

Возрастание в крови уровня натуральных киллеров (НК-клеток) при активном синтезе иммуноглобулинов А, М, G можно рассматривать как защитную реакцию организма на токсические воздействия хеликобактерной инфекции.

Весьма характерным для хронического гастрита В при всех степенях обсемененности хеликобактерной инфекцией являлось снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов, которое сочеталось с усилением кислороднезависимых (НСТ-тест) и кислородзависимых (СИЛ

лизосом) механизмов микробицидности ( $P < 0,05$ ). Снижение способности моноцитов к адгезии и распастыванию у таких больных отражает функциональное состояние наружной мембраны клеток.

Оценка иммунных сдвигов при разных степенях обсеменения проводилась в динамике в сопоставлении с данными при первой степени обсеменности.

При сравнительном сопоставлении полученных данных создается впечатление, что напряжение основных параметров Т- и В-звеньев иммунитета у больных хроническим гастритом В не зависит от величины хеликобактерного обсеменения (см. таблицу 1).

Все это свидетельствует о том, что дисфункция лимфоцитарных звеньев иммунитета носит однотипный характер и не зависит значимо от степени инфицирования организма хеликобактерной инфекцией (см. таблицу 1). При всем этом при 3–4-й

степенях хеликобактерного обсеменения выявлено снижение ЦИК по сравнению с 1-й степенью обсеменения ( $P < 0,05$ ).

Известно, что помимо лимфоцитов в системе защитных механизмов организма принимают участие фагоцитарные реакции нейтрофилов и моноцитов.

При хроническом гастрите В 3-й и 4-й степеней, обсемененности выявлено снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и особенно НСТ-теста ( $P < 0,05$ ), относительно 1-й степени обсемененности.

У больных хеликобактерным гастритом 2-й и 3–4-й степенями обсемененности отмечалось существенное снижение интегрального фагоцитарного индекса моноцитов за счет снижения их фагоцитарного числа и резкое подавление их кислородзависимых (НСТ-тест) и кислороднезависимых (СИЛ лизосом) механизмов микобактерицидности относительно соответствующих данных при 1-й степени обсемененности. Кроме того, у таких больных выявлялось снижение способности моноцитов к адгезии и распластыванию, отражающее реакцию наружной цитоплазматической мембраны клеток на хеликобактерную инфекцию. Все это свидетельствует о том, что при хроническом гастрите В происходит дисфункция фагоцитарных механизмов иммунитета, которая зависит от степени хеликобактерной обсемененности.

Известно, что клетки с негативной активацией могут подвергаться апоптозу, посредством которого удаляются дефектные клетки [12, 13]. Специфическим рецептором индукции апоптоза на мембране клеток является CD95 (Fas/APO-1) [12]. Согласно нашим данным, у больных хроническим гастритом В со 2-й и 3-й степенями обсемененности снижалось содержание в крови CD95-активаторов апоптоза по сравнению с показателями этого теста при 1-й степени обсеменения, что свидетельствует об увеличении Fas-зависимого апоптоза, т. е. апоптической гибели клеток ( $P < 0,05$ ).

#### Выводы

1. Хеликобактерная инфекция у больных хроническим гастритом В оказывает негативное действие на Т-хелперный и фагоцитарный механизмы иммунитета.

2. Хеликобактерная инфекция активирует НК-клетки (CD16) в системе защитных механизмов организма при хроническом гастрите В, которые оказывают прямое цитотоксическое действие на чужеродные структуры (неиммунный цитолиз).

3. Фагоцитарная активность моноцитов и нейтрофилов у больных хроническим гастритом В зависит от степени хеликобактерной обсемененности слизистой желудка.

4. Напряжение основных параметров Т- и В-звеньев иммунитета у больных хеликобактерным гастритом не зависит от степени инфицированности организма НР.

#### Литература

1. Дворкин М.И. Иммунные сдвиги при НР инфекции / М.И. Дворкин, И.М. Дворкин, М.И. Китаев // Ежегодный сборник научных статей КРСУ. Вып. 8. Бишкек, 2008. С. 163–169.
2. Мягкова Л.П. Характер репарации слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки при язвенной болезни / Л.П. Мягкова, О.А. Скалянская, Т.Л. Лапина и др. // Клиническая медицина. 1997. № 5. С. 21–24.
3. Appelmerk, R. Negrini, A. Moran et al. Molecular mimicry between *Helicobacter pylori* and the host // Trends-Microbiol. 1997. Vol. 5. P. 70–73.
4. Futagami S., Takahashi, Norose V., Kobayashi M. Systemic and local immune responses against *H. Pylori* urease in patients with chronic gastritis // Gut. 1998. Vol. 43. № 2. P. 176–180.
5. Макаренко Е.В. Генетические факторы патогенности *Helicobacter pylori* / Е.В. Макаренко // Иммунология, аллергология, инфектология. 2004. № 3. С. 78–81.
6. Нестерова И.В. Иммунологические аспекты патогенеза и лечения язвенной болезни / И.В. Нестерова, В.В. Оноприева // Appleton, London; Краснодар, 2005. С. 89–98.
7. Циммерман Я.С. Актуальные проблемы гастроэнтерологии в нашей стране / Я.С. Циммерман // Клиническая медицина. 2003. № 4. С. 4–11.
8. Пальцев А.И. Эффективность пилоробакта и дифференцированная терапия язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / А.И. Пальцев и др. // Клиническая медицина. 2005. № 7. С. 75.
9. Фадеенко Г.Д. Инфекция *Helicobacter Pylori*: итоги 20-летнего изучения ее патогенности / Г.Д. Фадеенко // Вестник Харьковского нац. ун-та. 2004. № 164. С. 115–116.
10. Кишкун А.А. Иммунологические и серологические исследования в клинической практике / А.А. Кишкун. М.: МИА, 2006. 536 с.
11. Китаев М.И. Региональные нормы показаний иммунитета и иммунологические маркеры у горного населения Кыргызстана / М.И. Китаев, К.А. Собуров. Бишкек, 2009. 148 с.
12. Барышников А.Ю. Иммунологические проблемы апоптоза / А.Ю. Барышников, Ю.В. Шишкин. М.: Эдиториал УРСА, 2002. 320 с.
13. T. Ikenoue, S. Maeda, K. Ogura et al. Determination of *Helicobacter pylori* virulence by Simple Gene Analysis of the Cag Pathogenicity Island // Clinical diagnostic laboratory immunology. 2001. Vol. 8 (1). P. 181–186.