

*В.И. Чернявский, С.В. Бирюкова, Ю.Л. Волянский, Л.В. Дячишина,
В.Б. Бойко, А.К. Толстанов, С.Ю. Беляевская, С.Н. Давыдова,
З.Г. Старобинец*

СОСТОЯНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ У БОЛЬНЫХ ПРИ HELICOBACTER PYLORI -АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ИХ РОЛЬ В МЕХАНИЗМАХ УЛЬЦЕРОГЕНЕЗА

Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова АМН Украины
Харьковская медицинская академия последиplomного образования
Буковинская государственная медицинская академия

Резюме. Данные, которые получены при изучении механизмов адаптивного иммунитета у НР-положительных и НР-отрицательных больных язвенной болезнью и хроническим гастритом, свидетельствуют об иммунном дисбалансе, более выраженном у НР-положительных больных, который характеризуется снижением показателей местного иммунитета (sIgA, лизоцим), Т-популяций лимфоцитов (СД3, СД8, СД16), незавершённым характером фагоцитоза и существенным повышением уровня сывороточных иммуноглобулинов А и G.

Ключевые слова: язвенная болезнь, хронический гастрит, *Helicobacter pylori*, местный иммунитет, иммунодефицит.

Вступление. Обсуждение роли иммунной системы при хроническом гастрите и язвенной болезни нашло отражение в многочисленных работах отечественных и зарубежных исследователей [8, 9], причем интерес к этой проблеме значительно возрос, когда значение *Helicobacter pylori* (НР) в этиологии и патогенезе этих заболеваний стало достаточно очевидным [6, 13, 14]. Участие иммунологических механизмов защиты при НР-ассоциированных заболеваниях трудно переоценить, принимая во внимание целый комплекс этиопатогенетических факторов, в том числе и микробного, играющих роль при этой патологии. И в этом случае значение протективных механизмов следует соотносить, в первую очередь, с существованием особой иммунной системы слизистых оболочек, структурной основой которой является *mucosa-associated lymphoid tissue* [5]. При этом резистентность слизистой оболочки желудка и, в частности к НР, определяется комплексом факторов, включающим систему естественной резистентности, мононуклеарно-фагоцитирующую систему, Т- и В-лимфоциты, определяющие в дальнейшем уровень адаптивного иммунного ответа. Без учета функционального состояния этих показателей достичь стойкого лечебного эффекта (только за счет антибактериальных и антисекреторных средств) достаточно проблематично.

Цель исследования. Оценить состояние показателей иммунологической реактивности при НР-ассоциированных заболеваниях и их патогенетическую роль.

Материал и методы. Под наблюдением находилось 134 больных, сопоставимых по возрасту и полу с диагнозом язвенная болезнь желудка (ЯБЖ) – 38 человек (1 гр.), язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (ЯБДК) – 44 человека (2 гр.), хронический гастрит (ХГ) – 52 человека (3 гр.).

Диагноз поставлен на основании анамнестических данных и результатов комплексного клиничко-лабораторно-инструментального исследования. Контрольную (4 гр.) составили 15 здоровых доноров с нормальной эндоскопической картиной и НР-негативным статусом слизистой оболочки.

В соответствии с поставленной целью, оценка иммунологического профиля у перечисленных категорий больных осуществлялась параллельно с индикацией и идентификацией НР в слизистой оболочке (СО) одновременно несколькими методами, непосредственно выявляющими микроорганизмы или продукты их жизнедеятельности. Эти методы включали посев антрального биопсийного материала на поверхность дифференциально-диагностических сред (железо-эритрит кровяной агар, шоколадный агар с селективными добавками смеси антибиотиков: ванкомилин, триметоприм, амфотерицин) с последующей инкубацией при 37°C 48 часов в микроаэрофильных условиях. Одновременно часть биоптата помещали в среду Кристенсена для определения уреазной активности. Положительный результат фиксировали по изменению желтого цвета среды на красный при инкубации в термостате при 37°C через 30–60 мин. В части случаев дополнительно использовали модифицированный уреазный тест. О принадлежности выделенных культур к роду НР судили по комплексу показателей, начиная от роста на селективных средах в микроаэрофильных условиях, харак-

терной морфологии микробных клеток, дающих позитивную реакцию на уреазу, каталазу, фосфатазу, не ферментирующих углеводы и не способных к гидролизу гиппурата. Одновременно, у НР-позитивных, части НР-негативных больных и в контрольной группе определили общее количество антигенспецифических Т-лимфоцитов (СД3), Т-хелперов (СД4), Т-супрессоров (СД8) с вычислением иммунорегуляторного индекса (СД4/СД8), В-лимфоцитов (СД22) и NK-клеток (СД16) методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием МКАТ к поверхностным антигенам [1]. Параллельно исследовали уровень сывороточных иммуноглобулинов, показатели местного иммунитета (sIgA, лизоцим) в пристеночной слизи гастродуоденальной зоны и фагоцитарную активность нейтрофилов крови.

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты бактериологического исследования антральных биоптатов у перечисленных категорий больных представлены на рис. 1.

Показатель высеваемости НР из СО колеблется от 76,3% до 59,6% в зависимости от категории больных, причем у больных ЯБЖ и ЯБДК этот показатель был практически на одном уровне (76,3%, и 72,7%) соответственно и достоверно ниже (59,6%) при хроническом гастрите. Этот показатель несколько ниже опубликованных данных [4, 7], что может быть связано как с активностью воспалительного процесса, степенью контаминации СО патогеном, так и с выбором метода его обнаружения.

В концепции патогенеза язвенной болезни роль иммунологических механизмов неоднократно обсуждалась [1, 11] и их существенное значение признается отечественными и зарубежными исследователями. При этом резистентность слизистой оболочки и, в частности, к НР определяется комплексом факторов, среди которых sIgA и лизоцим занимают особое место. Благодаря секреторному компоненту молекула Ig приобретает устойчивость к протеолизу и находится в надэпителиальной слизи sIgA препятствует адгезии микроорганизмов и их токсинов на эпителии слизистой, чем и определяется, в значительной степени, его роль как важнейшего элемента защиты. В свою очередь, лизоцим оказывая непосредственное литическое действие на микроорганизмы, участвует в регуляторных процессах в качестве посредника, оказывая афферентное действие на фагоциты и другие иммунокомпетентные клетки.

Результаты, полученные нами, при определении этих двух показателей местного иммунитета в пристеночной слизи гастродуоденальной зоны у больных ЯБ и ХГ показали, что уровень sIgA у больных всех групп достоверно ($P < 0,05$) снижен в сравнении с контрольной группой ($5,59 \pm 0,44$ мг/мл), причем этот показатель и у НР-позитивных и НР-негативных больных, независимо от локализации воспалительного процесса или язвенного дефекта, существенно не различался и составил $1,79 \pm 0,18$ мг/мл (1 гр), $2,39 \pm 0,28$ мг/мл (2 гр), $2,1 \pm 0,36$ мг/мл (3 гр), $2,70 \pm 0,24$ мг/мл (НР-негативные). Аналогичные результаты были получены при определении уровня лизоцима, показатели которого у больных всех групп, включая НР-негативных, были в 2 и более раз ниже (от 4,5 мкг/мл до 5,9 мкг/мл) контрольного ($10,7 \pm 1,4$ мкг/мл).

Эти два фактора раннего ответа, наряду с другими, являются первичным защитным механизмом на инвазию патогена и их дефицит существенно снижает резистентность слизистой, тем самым способствуя ее колонизации НР. Вместе с тем, трудно судить о времени возникновения таких нарушений, поскольку это может быть связано как с проведением исследования в разные периоды течения язвенного процесса (в стадии обострения, ремиссии, заживления), так и с исходно низким уровнем этих показателей, что определяется способностью плазматических клеток соб-

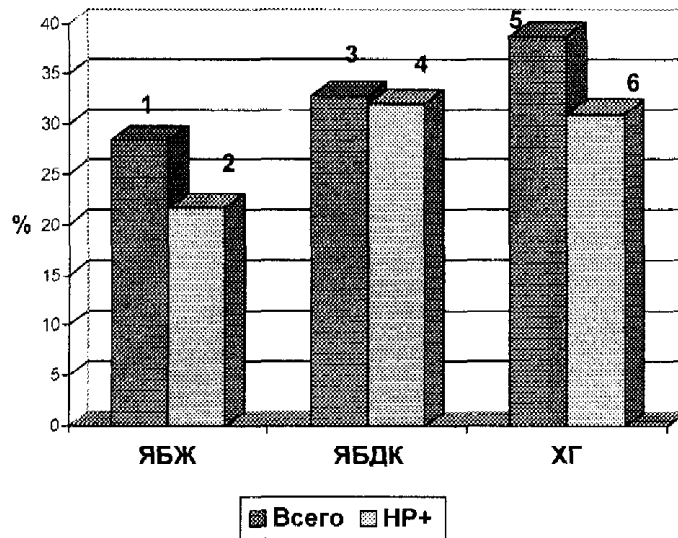


Рис. 1. Показатели высеваемости НР в гастробиоптатах (по оси ординат – высеваемость НР в процентах): 1 – процент обследованных больных ЯБЖ; 2 – из них НР-позитивных; 3 – процент обследованных больных ЯБДК; 4 – из них НР-позитивных; 5 – процент обследованных больных ХГ; 6 – из них НР-позитивных.

ственной пластинки СО и пейеровых бляшек синтезировать димерные молекулы IgA, а макрофагами и нейтрофилами лизоцим. Тем не менее, большинство авторов отмечают, что у более чем половины больных, независимо от характера течения воспалительного процесса, эти показатели ниже среднего уровня [3, 5]. Об этом свидетельствуют и полученные нами результаты, причем сниженные показатели, в равной мере, регистрировались и у НР-позитивных и НР-негативных больных.

Еще одним из важнейших факторов естественной резистентности на первом этапе иммунного ответа является клеточный компонент защиты. Известно, что эта стадия ответа на НР характеризуется значительной аккумуляцией нейтрофильных лейкоцитов, макрофагов и лимфоцитов в СО.

Результаты изучения мононуклеарно-фагоцитирующей системы у НР-позитивных больных представлены в табл. 1. Показатели, характеризующие функциональную активность этой системы (ФП-фагоцитарный показатель, за исключением больных ХГ, ИФ-индекс фагоцитоза, ИЗФ-индекс завершенности фагоцитоза и показатель ферментативной активности фагоцитов-НСТ-тест) достоверно снижены. Два последних показателя имеют особое значение при НР-ассоциированных заболеваниях, поскольку они характеризуют способность мононуклеарных клеток к деструкции патогена. Снижение значений этих показателей, в значительной мере, определяют незавершенный характер фагоцитоза, что может сопровождаться внутриклеточным выживанием инфекционного агента, причем не только в “профессиональных” фагоцитах, но и эпителиальных клетках желудка, способных к эндоцитозу. Это может быть связано как со сниженной ферментативной активностью лейкоцитов, так и со способностью НР продуцировать ряд ферментов (уреазу, каталазу, супероксиддисмутазу), нейтрализующие бактерицидные молекулы, образуемые в организме хозяина и позволяющие НР избежать разрушения в фагоцитах. Вместе с тем, процесс деструкции патогена в фаголизосоме и образование микробных пептидов, которые макрофаг в комплексе с антигенами МНС II представляют Т-лимфоцитам, является необходимым этапом индукции адаптивного иммунитета. В свою очередь, формирование полноценного иммунного ответа определяется комплексной реакцией организма на генетически чужеродные субстанции, включая клеточные и гуморальные реакции.

Таблица 1

**Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов крови
у НР-позитивных больных**

Показатели, %	Контрольная группа, n=15	ЯБЖ, n=29	ЯБДК, n=32	ХГ, n=31
ФП	62,0±5,9	29,7±2,8*	34,9±3,6*	47,9±5,6
ИФ	4,3±0,5	1,9±0,4*	1,3±0,1*	2,2±0,4*
ИЗФ	11,6±1,3	5,4±0,8*	4,8±0,9*	6,6±1,3*
НСТ-тест	19,3±2,1	9,8±1,1*	12,3±1,9*	11,2±1,7*

Примечание. * – P < 0,05.

Несмотря на то, что роль лимфоцитов, наряду с другими клеточными элементами, в генезе ХГ и ЯБ достаточно очевидна, фактические данные о состоянии этой системы неоднозначны. Это касается не только лимфоцитов собственной пластинки СО и внутриэпителиальных, но и циркулирующих. У больных регистрировалось снижение как относительного и абсолютного количества Т-клеток, так и их функциональной активности [2], в то время как другие авторы отмечали, что уровень этой популяции оставался неизменным, либо повышенным [10].

Результаты изучения субпопуляционного состава лимфоцитов крови у НР-позитивных больных, полученные нами и представленные в табл. 2, свидетельствовали о том, что общая популяция Т-лимфоцитов (СД3) достоверно снижена у всех обследованных больных, в сравнении с контрольной группой, однако в большей степени у больных ЯБЖ.

Отмечено также снижение количества СД4 и уровня СД8, причем этот показатель практически одинаково снижен у больных всех групп. Низкий уровень СД8 определил и изменение иммунорегуляторного индекса, характеризующего оптимальное соотношение СД4/СД8. Значение этого показателя возросло (в среднем для всех групп) до 2,55, в сравнении с 1,80 в контрольной группе. Что касается натуральных киллеров (НК-СД16), то они являются одним из основных элементов системы

Субпопуляционный состав лимфоцитов крови и уровень иммуноглобулинов у НР-позитивных больных

Иммунологические показатели, %	Контрольная группа (n=15)	ЯБЖ (n=26)	ЯБДК (n=28)	ХГ (n=30)
СД 3+	58,6±6,7	36,2±3,1*	38,1±3,8*	41,6±4,3*
СД 4+	39,1±4,2	30,6±2,9	34,8±3,7	36,1±3,8
СД 8+	24,2±3,3	12,6±2,2*	14,1±1,8*	16,9±2,4
СД4+/СД8	1,8±0,3	2,8±0,4*	2,4±0,3	2,5±0,5
СД16+	14,0±1,6	7,1±1,2*	8,2±1,6*	10,8±1,8
СД22+	22,3±3,8	27,8±5,1	23,9±3,8	28,5±4,9
IgA (г/л)	1,1±0,2	2,5±0,3*	2,8±0,4*	1,9±0,3
IgG (г/л)	9,2±1,2	15,6±1,7*	18,7±2,4*	17,1±2,6

Примечание. * – $P < 0,05$.

естественной цитотоксичности, играющих, на стадии раннего индуцибельного ответа важную роль в патогенезе гастродуоденальных болезней, связанных с НР. Данные, полученные нами, свидетельствовали о достоверном снижении количества этих клеток у больных язвенной болезнью. Знание уровня этой популяции, крайне важно не только потому, что есть прямые доказательства участие НК в защите от внутриклеточных микроорганизмов, но и в связи со способностью этих клеток продуцировать γ -ИНФ, ИЛ-3, ИЛ-8 и другие хемокины, активирующие приток новых участников иммунной защиты [12]. Четкая тенденция к снижению этих показателей, однако менее выраженная, регистрировалась и у больных с НР-негативным статусом.

Данные оценки В-системы иммунитета у НР-позитивных больных показали, что содержание В-лимфоцитов (СД22) в крови больных ЯБ имело незначительную тенденцию к увеличению. Отмечено существенное ($P < 0,05$) увеличение уровня иммуноглобулинов А и G. В большей степени у больных ЯБ (IgA – 2,87 г/л – 2,53 г/л) и в меньшей с ХГ (1,95 г/л) в сравнении с контролем (1,16 г/л) и соответственно (Ig G – 18,7 г/л – 15,6 г/л) при контроле (9,2 г/л). Эти данные являются, по-видимому, отражением антигенной стимуляции, обусловленной НР, поскольку у больных с НР-негативным статусом эти показатели колебались в пределах контрольных. Это не противоречит известным фактам [5], указывающим на то, что в ряду энтеропатогенных бактерий липополисахариды НР обладают более низкой иммуногенностью, чем аналогичные антигены *E.coli* и бактерий рода *Salmonella*.

Выводы. 1. Изменение иммунологических показателей у больных ЯБ и ХГ, ассоциированных с НР, можно рассматривать как вторичный иммунный дефицит, характеризующийся нарушением протективных механизмов защиты и состоящих в угнетении факторов естественной резистентности, дисбалансе популяционного состава Т-лимфоцитов и несостоятельности фагоцитоза.

2. Системные иммунологические нарушения, играющие важную патогенетическую роль в механизмах ulcerогенеза указывают на целесообразность использования в комплексной терапии таких больных иммуотропных средств, способных модулировать иммунный ответ за счет мобилизации механизмов саногенеза и позволяющих достичь улучшения как непосредственных, так и отдаленных результатов лечения.

Литература. 1. Андерсен Л., Норгаард А., Беннедсен М. Клеточный иммунный ответ организма на инфекцию *Helicobacter pylori* // Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1999. – №2. – С.22–26. 2. Джумабаев С.У., Касымов А.Л. Коррекция иммунологических нарушений при хирургии язвенной болезни двенадцатиперстной кишки // Хирургия. – 1997. – №1. – С.21–24. 3. Дорофейчук В.Г., Шабунина Е.И., Потехин П.П. Пилорический хеликобактериоз и система местной защиты // Рос. педиатр. ж. – 1998. – №3. – С.10–12. 4. Кожанова М.Г. *Helicobacter pylori*. Роль в развитии гастродуоденальных заболеваний и методы диагностики // Клини. лаб. диагност. – 1999. – №11. – С.52–55. 5. Кононов А. В. Местный иммунный ответ на инфекцию *Helicobacter pylori* // Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1998. – №2. – С.15–22. 6. Crinn S.J., Nedrud J.G. Immunopathology in *Helicobacter pylori* infection and disease // Springer Semin. immunopathol. – 1997. – V.18. – P.495–513. 7. Kuipers E.J., Thijg J.S., Festen H.P. The prevalence of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease // Aliment. Pharmacol. Ther. – 1995. – V.9. – Suppl.2. – P.59–69. 8. Moran A. P. Pathogenic properties of *Helicobacter pylori* // Scand. J. Gastroenterol. – 1996. – V.31. – P.22–31. 9. Мягкова Л. Н., Алекперов Р. Т. Состояние иммунной системы и репаративные процессы при язвенной болезни // Клини. мед. – 1991. – Т.8, №8. – С.26–30. 10. Пасеч-

ников В.Д., Мащенко Е.А., Журбина Н.В. и др. Воспалительный и иммунный ответы слизистой оболочки желудка на *Helicobacter pylori* при язвенной болезни // Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.– 1998.– №3.– С.41–45. 11. Трошунин А. В., Кустова И.И., Семянникова Н.М. Особенности иммунного статуса больных хроническим *Helicobacter pylori*-ассоциированным гастритом // Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.– 1995.– №3, Прилож.1.– С.237. 12. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные представления о защите организма от инфекции // Иммунология.– 2000.– №1.– С.61–64. 13. Hatz R.A., Meimarakis G., Bayerdorffer E. et al. Characterization of lymphocyte infiltrates in *Helicobacter pylori* – associated gastritis // Scand. J. Gastroenterol.– 1996.– V.31.– P.222–228. 14. Циммерман Я. С., Зинатулин М.Р. *Helicobacter pylori* и их роль в развитии хронического гастрита и язвенной болезни // Клини. мед.– 1997.– №4.– С.8–13.

THE STATE OF IMMUNOLOGIC REACTIVITY INDICES IN PATIENTS WITH HELICOBACTER PYLORI – ASSOCIATED DISEASES AND THEIR ROLE IN THE MECHANISMS OF ULCERO GENESIS

*V.I.Chernyavsky, S.V.Biriukova, Yu.L.Volyansky, L.V.Diachyshyna,
V.B.Boiko, A.K.Tolstanov, S.Yu.Belyaevskaya, S.H.Davydova, Z.G.Starobinets*

Abstract. The data that are obtained while studying the mechanisms of adaptive immunity in HP-positive and HP - negative patients with peptic ulcer and chronic gastritis are indicative of immune imbalance, more pronounced in HP – positive patients. It is characterized by a decrease of local immunity parameters (slg A, lysozyme), T–populations of lymphocytes (CD3, CD8, CD16), by an incomplete character of phagocytosis and a substantial increase of the level of serum immunoglobulins A and G.

Key words: peptic ulcer, chronic gastritis, *Helicobacter pylori*, local immunity, immunodeficiency.

I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of Ukraine's AMS (Kyiv)
Medical Academy of Post – Graduate Education (Kharkov)
Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Buk. Med. Herald.– 2003.– Vol.7, №1.– P.175–179.

Надійшла до редакції 07.10.2002 року