

ИНФЕКЦИОННАЯ СОСТАВЛЯЮЩАЯ И ИММУНОПАТОЛОГИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ

К. мед. н. В.Н. НЕЛЮБИН, к. мед. н. В.П. МУДРОВ,
д. мед. н. С.В. СКВОРЦОВ, Е.О. КУЗНЕЦОВ

Центральная больница №6 Министерства путей сообщения,
Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко, Москва,
Российская Федерация

Выявлено коинфицирование слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта *Helicobacter pylori* и вирусами группы герпеса у больных хроническим гастритом, язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. Проведена оценка общих и специфических иммунных реакций организма на указанные инфекционные агенты. Обнаруженные изменения в клеточном и гуморальном звене иммунитета могут свидетельствовать об обусловленном ими системном иммунопатологическом процессе.

Установленный в настоящее время факт инфекционной этиологии ряда заболеваний, ранее считавшихся соматическими (язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, некоторые сердечно-сосудистые и онкологические заболевания), может вывести инфекционную патологию на лидирующее место в списке заболеваний с высокой смертностью [1].

Наблюдается стремительный рост числа заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Ежегодно в мире 10 млн пациентов впервые устанавливается диагноз гастрит. Согласно эпидемиологическим исследованиям увеличивается распространенность хеликобактериоза. В Москве, по данным ЦНИИ гастроэнтерологии, этот показатель достигает 64–75% [2], по другим регионам колеблется от 29 до 92% [3].

Эпидемиологическими исследованиями установлено, что в развитии хронических воспалительных заболеваний ЖКТ и гастродуоденальной области могут участвовать и вирусы группы герпеса [4, 5].

Однако отсутствие систематизированных данных о вирусной составляющей этиологического фактора хронических заболеваний ЖКТ, о влиянии инфекционных агентов на основные функции иммунокомпетентных клеток, а также противоречивость данных о характере иммунного ответа определяют актуальность темы данного исследования.

Было обследовано 75 пациентов, находившихся на диспансерном наблюдении в Центральной больнице №6 МПС России. Диагноз ставили на основании данных: осмотра, эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС), гистологического и цитологического исследований в соответствии с модифицированной Сиднейской системой [6].

Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) биопсийный материал слизистой оболочки исследовали на наличие участков генома следующих микроорганизмов: *H. pylori* (*ureC*-, *cagA*-, *vacA*-генов), вируса простого герпеса I и II типов (ВГЧ-1 и -2), вируса варицелла зостер (ВГЧ-3), вируса Эпштейна–Барр (ВГЧ-4), цитомегаловируса (ВГЧ-5), вируса герпеса человека VI, VII, VIII типов (ВГЧ-6, -7, -8). Для этого использовали готовые наборы отечественных фирм-производителей: «Амплисенс», «Биоком», «Литех»,

«ДНК-технология» (Москва); «Вектор-Бест» (Новосибирск). Амплификацию проводили на амплификаторах «Терцик» («ДНК-технология»).

Гуморальный иммунный ответ к микроорганизмам оценивали количественно методом иммуноферментного анализа (ИФА) по уровню сывороточных антител класса *IgA*, *IgG* к *H. pylori* («Diagnostic system laboratories», США); *IgM* к *H. pylori* и *IgG* к *CagA*-белку *H. pylori* («Biomerica», США); *IgG* к вирусу простого герпеса I и II типов, вирусу варицелла зостер, цитомегаловирусу («Diagnostic system laboratories», США), *IgG* к *VCA*-, *EA*-, *EBNA-1*-белкам вируса Эпштейна–Барр («Gen Bio», США), *IgG* к ВГЧ-6, -8 («Вектор-Бест») в соответствии с протоколом производителя.

Цитологическое и гистологическое исследования проводили традиционными методами в лаборатории Центральной больницы МПС им. Н.А. Семашко.

Определение гематологических показателей проводили на гематологическом анализаторе «Cell-Dyn 1700». Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови определяли методом лазерной проточной цитофлуориметрии на проточном цитометре «Coulter Epics XL» антителами против CD 3⁺4⁺, 3⁺8⁺, 5⁺19⁺, 16⁺56⁺ («Caltag Laboratories», США).

Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием общепринятых методов. Достоверность различий определяли с использованием критерия Краскелла–Уоллеса. Коэффициент корреляции определяли по методу ранговой корреляции Спирмена.

На основании данных ЭГДС были сформированы группы пациентов, представленные в таблице.

Критериями для отбора в группы служили:

группа сравнения — отсутствие признаков воспаления по данным ЭГДС, гистологического и цитологического исследования;

группа больных с поверхностным воспалением — поверхностный гастрит;

группа больных с деструктивным воспалением — хронический эрозивный гастрит, хронический эрозивный гастродуоденит и язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки.

Группы обследованных пациентов

Диагноз по данным ЭГДС, подтвержденным гистологией	Возраст, лет (женщины/мужчины)	Число женщин	Число мужчин
Группа сравнения, n = 20	21–29	0	20
Поверхностное воспаление, n = 14	20–27 / 23–49	9	5
Деструктивное воспаление, n = 41	23–64 / 26–66	15	26

Исследование слизистой оболочки гастроудоденальной зоны методом ПЦР показало высокую встречаемость патогенных штаммов *H. pylori* при хронических воспалительных заболеваниях с эрозивными и язвенными поражениями желудка и двенадцатиперстной кишки. Во всех случаях обнаружения *H. pylori* в слизистой оболочке присутствовал фрагмент генома, кодирующий С-субъединицу уреазы (*ureC*).

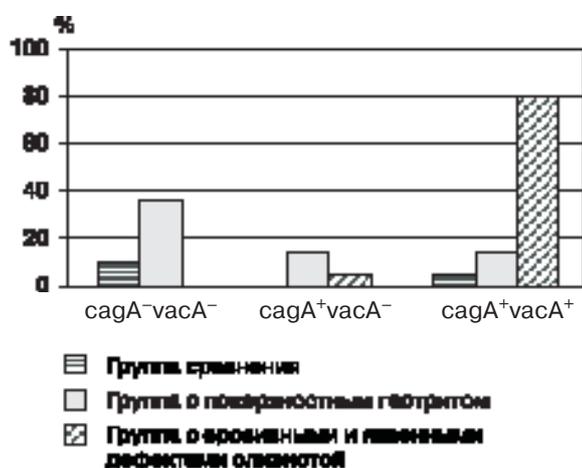


Рис. 1. Частота патогенных штаммов *H. pylori* в слизистой оболочке при хронических заболеваниях гастроудоденальной области

cagA⁻ vacA⁻ — непатогенный штамм;
cagA⁺ vacA⁻ — патогенный штамм;
cagA⁺ vacA⁺ — патогенный штамм с язвеногенной активностью

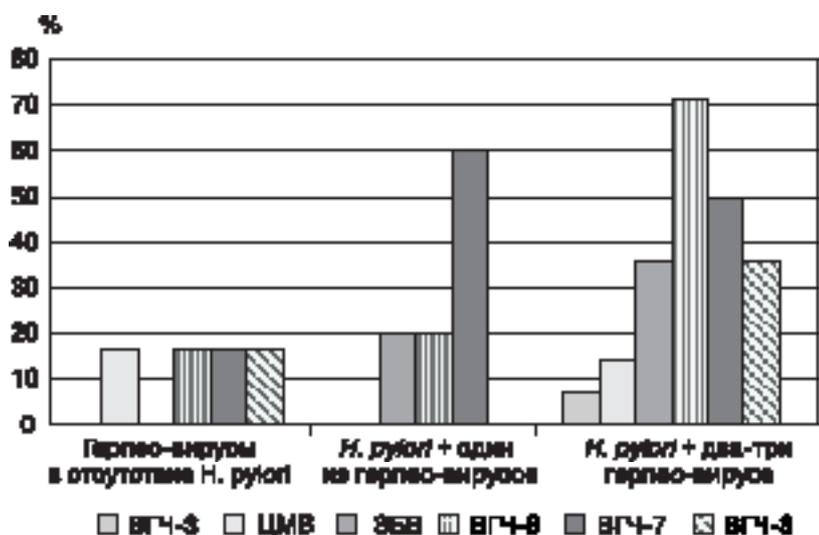


Рис. 2. Частота вирусов герпеса при микст-инфицировании деструктивно-воспаленной слизистой оболочки

Были определены типы штаммов *H. pylori*, наиболее часто контаминирующих слизистую оболочку гастроудоденальной области (рис. 1).

В группе сравнения в трех случаях был обнаружен *ureC-H. pylori*, что указывает на принципиальное присутствие микроорганизма в здоровой слизистой оболочке гастроудоденальной области. Гены патогенности *H. pylori* — *cagA* и *vacA* обнаружены лишь у одного пациента, причем признаков воспаления, по данным ЭГДС и гистологии, у него не было.

Дальнейшие исследования биопсийного материала слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки методом ПЦР выявили их контаминированность вирусами группы герпеса.

В группе сравнения встречаемость вирусов составила: ВГЧ-4 — 5; ВГЧ-6 — 10; ВГЧ-7 — 10%.

При поверхностном воспалении: ВГЧ-4 — 30; ВГЧ-6 — 44,4; ВГЧ-7 — 10; ВГЧ-8 — 10%.

При деструктивном повреждении слизистой оболочки: ВГЧ-3 — 7,1; ВГЧ-4 — 17,6; ВГЧ-5 — 14,3; ВГЧ-6 — 35,3; ВГЧ-7 — 32,4; ВГЧ-8 — 17,5%.

В группе больных с деструктивными изменениями слизистой оболочки вирусы герпеса обнаруживались чаще и в более широком спектре. Наблюдались различные сочетания инфицирующих агентов (рис. 2).

Анализ гуморального иммунного ответа к *H. pylori* показал, что у больных хроническим поверхностным гастритом сывороточные антитела класса IgM и IgA были повышены незначительно (рис. 3).

При деструктивном воспалении уровень антител класса IgA к *H. pylori* был существенно выше диагностического порога ($p < 0,05$).

Исследование гуморального иммунного ответа к вирусу ВГЧ-4 (рис. 4) позволило установить, что при деструкции слизистой концентрация антител к капсидному антигену (VCA) была выше ($p < 0,05$), чем в двух других группах, а уровень IgG к EA- и EBNA-1-антигенам (маркеры репликации вируса) показали статистически значимое превышение при поверхностном воспалении слизистой по отношению как к группе сравнения, так и к группе с деструктивным воспалением слизистой оболочки ($p < 0,05$).

Уровень сывороточных IgG-антител к ВГЧ-6 был существенно выше при поверхностном гастрите ($p < 0,05$) и при эрозивных язвенных повреждениях ($p < 0,01$), чем в группе сравнения (рис. 5). Статистически значимых

различий в уровне антител к ВГЧ-8, как и к остальным вирусам, обнаружено не было.

Количественная оценка фенотипа лимфоцитов периферической крови при хронических заболеваниях гастродуоденальной области выявила статистически значимый рост Т-лимфоцитов, в первую очередь Т-хелперов, и снижение числа НК-клеток в группах с поверхностным и деструктивным воспалением

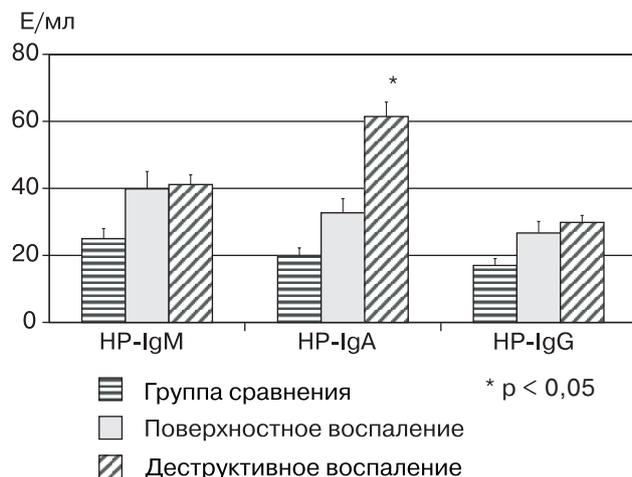


Рис. 3. Уровень сывороточных антител к *H. pylori*.
То же на последующих рисунках

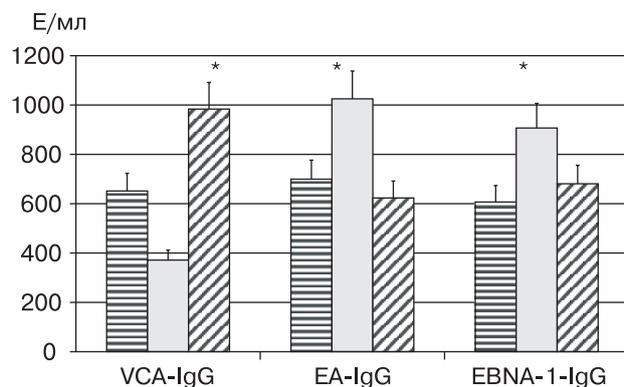


Рис. 4. Уровень сывороточных антител класса IgG к ранним и поздним маркерам репликации вируса Эпштейна–Барр

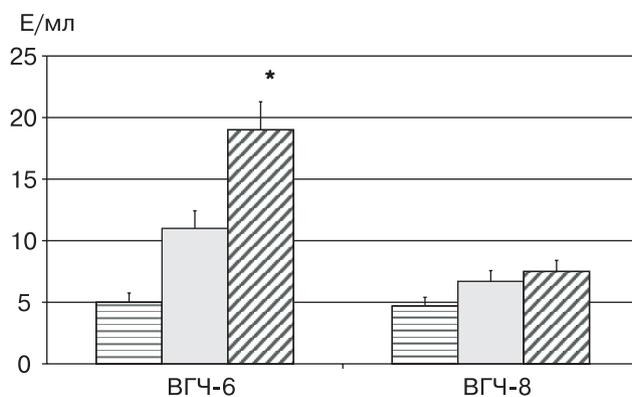


Рис. 5. Уровень сывороточных антител класса IgG к ВГЧ-6 и -8

(рис. 6), а также некоторое увеличение числа цитотоксических Т-клеток, статистически значимое только при деструктивном воспалении.

Представленные данные убедительно свидетельствуют о том, что преобладающий вклад в развитие хронических воспалительных заболеваний гастродуоденальной области вносят *H. pylori* и в первую очередь его патогенные штаммы $cagA^+vacA^-$, $cagA^+vacA^+$. Частота их выявления прямо связана с характером и объемом изменений слизистой оболочки. Кроме того, у таких пациентов с большей частотой обнаруживали один или несколько вирусов группы герпеса.

В недавней работе итальянских авторов показано, что ДНК ВГЧ-7 была обнаружена в 80% желудочных биопсий, как в здоровой слизистой, так и при хроническом воспалении [5]. В наших исследованиях ВГЧ-7 обнаруживался чаще при деструктивных изменениях слизистой оболочки — в 32,4% против 10,0% в двух других группах. Эти наблюдения показывают, что желудочная ткань может представлять собой резервуар персистенции ВГЧ-7.

В ряде сообщений отмечается, что лимфоидная ткань ЖКТ может представлять очаг персистенции вирусов семейства герпеса, в частности вируса Эпштейна–Барр и цитомегаловируса [4, 7]. В наших исследованиях частота их обнаружения в группах пациентов с поверхностными и деструктивными изменениями составила 35,7 и 14,3% соответственно против 5% ВГЧ-4 в группе сравнения.

Обнаружено наличие в слизистой оболочке ЖКТ других вирусов группы герпеса, в частности ВГЧ-6 и -8 и вируса варицелла зостер (ВГЧ-3). Достаточно высокая встречаемость этих вирусов в пораженной слизистой оболочке ЖКТ может свидетельствовать о непосредственном участии вирусов *Herpesviridae* в воспалительном процессе.

Парадокс *H. pylori*-инфекции состоит в том, что иммунный ответ организма человека далеко не всегда ведет к элиминации микроорганизма [3, 8, 9].

В работах ряда авторов по фенотипированию лимфоцитов слизистой оболочки желудка, участвующих в иммунном ответе, показано, что $CD4^+$ Т-лимфоциты, инфильтрирующие слизистую и *lamina propria*, относятся к Т-хелперам 1-го типа [3, 10, 11]. Причем дифференцировку предшественников Т-хелперов именно в клетки 1-го типа обуславливают антигены *H. pylori* [9].

Многочисленными работами *in vivo* и *in vitro* доказано, что, используя свои особенности, *H. pylori* индуцирует провоспалительный иммунный ответ с участием Тх-1, не приводящий к эффективной элиминации патогенного агента [6, 9, 11]. В настоящей работе также показано увеличение числа Т-хелперов и в периферической крови. Сравнение средних значений у пациентов трех групп выявило повышение абсолютного и относительного числа Т-лимфоцитов и снижение числа НК-клеток как при деструктивном, так и при поверхностном воспалении.

Учитывая, что при инфицировании ВГЧ-6 в периферической крови повышается число цитотоксических Т-клеток, а также наличие серологических мар-

керов репликации ВГЧ-4 в группах с патологическими изменениями, можно сделать предположение об иницирующей роли вирусов *Herpesviridae* в развитии и поддержании хронического воспалительного процесса.

Высокая частота детекции вирусов *Herpesviridae* в этих группах может свидетельствовать о существенном вкладе герпес-вирусов в поддержание воспаления и длительной совместной персистенции с *H. pylori*.

Итак, *H. pylori*- и герпес-вирусная инфекция приводят к деструкции и метаплазии эпителия гастродуоденальной области. Создаются условия, благоприятные для длительной персистенции *H. pylori*

и других патогенных микроорганизмов, в частности вирусов группы герпеса. Вероятно, это обусловлено нарушением регуляции иммунных защитных механизмов барьерных тканей. Происходит торможение процесса элиминации патогенных микроорганизмов

Литература

1. Шевченко Ю.Л., Онищенко Г.Г. Микроорганизмы и человек. Некоторые особенности взаимосуществования на современном этапе // Журн. микробиол.— 2001.— № 2.— С. 94–104.
2. Щербаков П.Л. Эпидемиология инфекции *Helicobacter pylori* // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.— 1999.— Т. IX, № 2.— С. 8–11.
3. Исаков В.А., Домарадский И.В. Хеликобактериоз.— М.: Медпрактика, 2003.— 412 с.
4. Recurrent genomic aberrations in gastric carcinomas associated with *Helicobacter pylori* and *Epstein-Barr virus* / W.Y. Chan, Y. Liu, C.Y. Li et al. // Diagn. Mol. Pathol.— 2002.— Vol. 11 (3).— P. 127–134.
5. Human herpesvirus 7 is latent in gastric mucosa / A. Gonnelli, S. Voccia, M. Boni et al. // J. Med. Virol.— 2001.— Vol. 63 (4).— P. 277–283.
6. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника.— М., 1998.— 420 с.
7. Chronic active plasmacytic gastritis associated with cytomegalovirus / R. Drut, M. Drut, M.A. Gomez, P. Lespi // Acta Gastroenterol. Latinoam.— 2000.— Vol. 30 (1).— P. 9–14.
8. Crabtree J.E. Immune and inflammatory responses to *Helicobacter pylori* infection // Scand. J. Gastroenterol. Suppl.— 1996.— Vol. 215.— P. 3–10.
9. CD4⁺ and CD8⁺ T cell responses in *Helicobacter pylori*-infected individuals / M. Quiding-Jarbrink, B.S. Lundin, H. L. nroth, A.-M. Svennerholm // Clin. Exp. Immunol.— 2001.— Vol. 123.— P. 81–87.
10. Lohoff M., Rollinghoff M., Sommer F. *Helicobacter pylori* gastritis: a Th1 mediated disease? // J. Biotechnol.— 2000.— Vol. 83 (1–2).— P. 33–36.
11. Antrum- and corpus mucosa-infiltrating CD4⁺ lymphocytes in *Helicobacter pylori* gastritis display a Th1 phenotype / F. Sommer, G. Faller, P. Konturek et al. // Infect. Immun.— 1998.— № 11, 66.— P. 5543–5546.

Поступила 24.01.2005

INFECTION COMPONENT AND IMMUNOPATHOLOGY IN CHRONIC INFLAMMATORY DISEASES OF THE GASTRODUODENAL MUCOSA

V.N. Nelubin, V.P. Mudrov, S.V. Skvortsov, E.O. Kuznetsov

Summary

Co-infection of the gastrointestinal mucosa with *Helicobacter pylori* and herpes viruses in patients with chronic gastritis, gastric and duodenal ulcer was revealed. General and specific immune reactions of the organism to the above agents were evaluated. The revealed changes in the cellular and humoral immunity can suggest systemic immunopathological process.

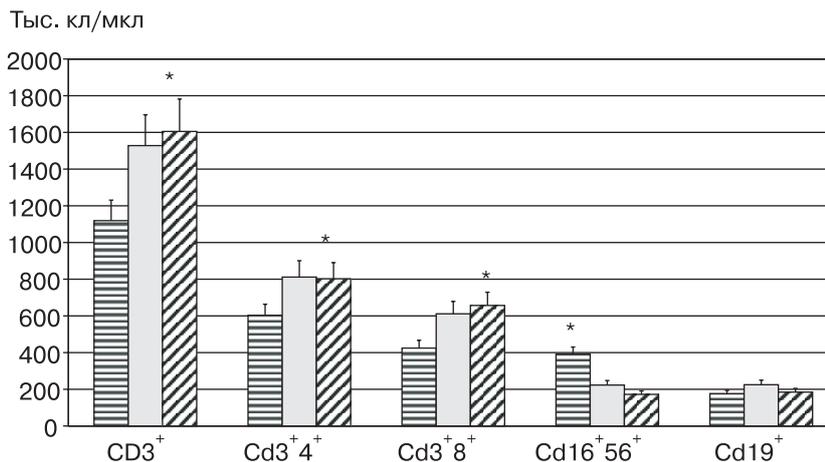


Рис. 6. Субпопуляции лимфоцитов периферической крови при хронических воспалительных заболеваниях гастродуоденальной области

вследствие включения в иммунный ответ в очаге воспаления Т-хелперов 1-го типа и провоспалительного пула цитокинов. Это, в свою очередь, приводит к дальнейшей деструкции эпителия, *lamina propria* слизистой оболочки и подслизистых тканей.