

---

# ЦИТОКИНОВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНО-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА, ОБУСЛОВЛЕННОЙ *HELICOBACTER PYLORI* И ВИРУСАМИ ГЕРПЕСА

**В.Н. Нелюбин, В.П. Мудров**

Центральная клиническая больница № 6 ОАО «РЖД»  
ул. Шоссейная, 43, Москва, Россия, 109388

**А.В. Чеканов**

Российский государственный медицинский университет  
ул. Островитянова, 1, Москва, Россия, 117513

**Р.И. Сепиашвили**

Институт иммунофизиологии  
ул. Островитянова, 4, Москва, Россия, 117513

Обследовано 104 пациента с воспалительными заболеваниями желудка и 12-перстной кишки. Методом ИФА в сыворотке крови определяли уровни цитокинов: ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИНФ $\gamma$ . Методом ПЦР исследовали биоптаты слизистой оболочки (СО) краевой зоны воспаления на наличие *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) и вирусов группы герпеса. У 37 пациентов методом ПЦР в реальном времени в биоптатах определяли экспрессию мРНК цитокинов: ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18, ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ . Результаты исследования биопсийного материала СО показали высокую частоту обнаружения патогенных штаммов *H. pylori* (до 80%) и вирусов герпеса (ЭБВ, ВГЧ-6, -7, -8) в различных сочетаниях. При инфицировании СО наблюдается повышение уровней сывороточных ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИНФ $\gamma$ , а также уровней экспрессии мРНК цитокинов в СО.

**Ключевые слова:** ЖКТ, *H. pylori*, герпес-вирусы, цитокины, мРНК.

Установлено, что в развитии хронических воспалительных заболеваний гастродуоденальной области помимо основного этиологического фактора *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) [1, 2, 4] принимают участие вирусы группы герпеса (*Epstein-Barr virus*, *Cytomegalovirus*, *Human herpes virus VI*, *VII*). Выраженность воспалительных и деструктивных изменений слизистой оболочки при данной патологии коррелирует с наличием агрессивных штаммов *H. pylori* (CagA<sup>+</sup>VacA<sup>+</sup>), а также с наличием вирусов в очаге поражения и их репертуаром [5, 6, 10].

Не исключено, что локально запускаемый цитокиновый каскад играет ключевую роль в прогрессировании хронических воспалительных и деструктивных процессов в слизистой оболочке (СО) гастродуоденальной области. В связи с этим новым направлением в изучении данной патологии является изучение местной цитокиновой регуляции иммунного ответа.

Особенности цитокиновой регуляции местной иммунной реакции в СО при развитии язвенной болезни и эрозивного гастрита изучаются на различных моделях *in vitro*. Вместе с тем данных о связи профиля цитокинов с активностью воспалительного процесса и степенью деструкции СО при данной патологии у человека недостаточно.

Опубликованы данные, свидетельствующие о том, что стимулирующее действие на выработку цитокинов клетками СО желудка инфицированных людей ока-

зывают липополисахарид клеточной стенки *H. pylori*, уреазы, CagA-протеин и некоторые другие его антигены. В ответ на стимул синтезируются интерлейкины: ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-18, ФНО- $\alpha$  [7, 8, 9]. Однако о влиянии вирусов группы герпеса на синтез цитокинов в СО известно значительно меньше, особенно в сочетании с *H. pylori*. В связи с этим целью нашего исследования стало изучение проявлений генерализованной и местной цитокиновой реакции в СО при инфицировании *H. pylori* и вирусами герпеса.

**Материалы и методы.** Обследовано 104 пациента с воспалительными заболеваниями желудка и 12-перстной кишки. Степень повреждения СО желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) оценивали по данным эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС), цитологического и гистологического исследований. Для изучения брали биопсийный материал из зоны воспаления и визуально неизменной СО. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) определяли наличие *Helicobacter pylori* и вирусов группы герпеса: вирус простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ-1,2), варицелла зостер вирус (ВЗВ), вирус Эпштейна—Барр (ЭБВ), цитомегаловирус (ЦМВ), вирус герпеса человека 6, 7-го и 8-го типов (ВГЧ-6,7,8) с использованием наборов реактивов отечественных производителей: «Литех», «ДНК-технология», «Биоком», «АмплиСенс». Исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА) уровень провоспалительных цитокинов в периферической крови с использованием наборов «Cytimmune», США. В биоптатах СО у 37 пациентов методом ПЦР в реальном времени определяли уровень экспрессии матричных РНК (мРНК) цитокинов: ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18, ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ . Статистические различия в количественной экспрессии мРНК оценивали по расширенному *t*-критерию Стьюдента [3].

**Полученные результаты и обсуждение.** По результатам проведенного ЭГДС обследования пациентов разделили на следующие группы (табл. 1).

Таблица 1

Группы обследованных пациентов

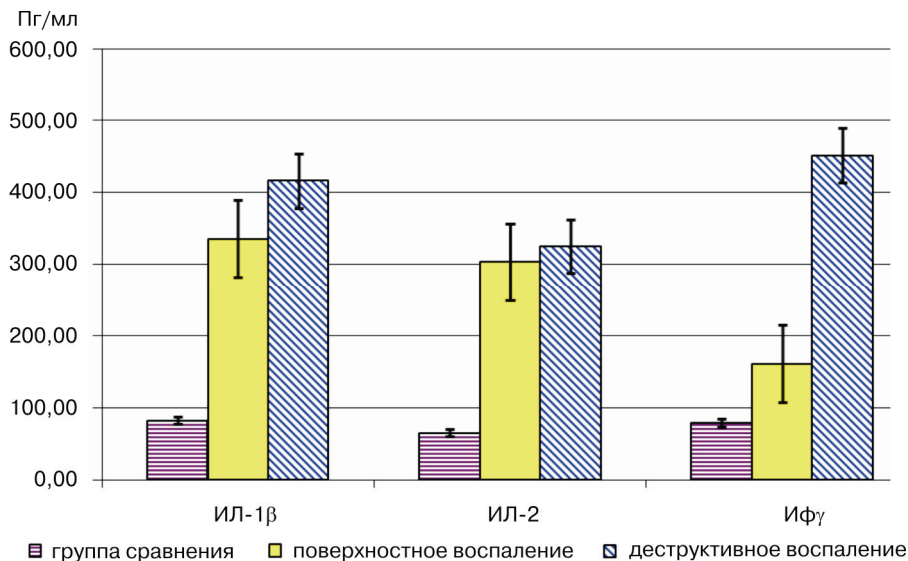
Диагноз по данным ЭГДС, подтвержденным гистологией	Число пациентов	Возраст (лет)	Число женщин	Число мужчин
Поверхностное воспаление	34	27—45	9	25
Деструктивное воспаление	39	27—60	17	22
Группа сравнения (контрольная)	31	18—37	10	21

В группу с поверхностным воспалением вошли пациенты с поверхностным гастритом.

В группу с деструктивными воспалительными изменениями слизистой оболочки гастродуоденальной области вошли пациенты с хроническим эрозивным гастритом, хроническим эрозивным гастродуоденитом и язвой желудка и двенадцатиперстной кишки.

Критерием для отбора пациента в группу сравнения служили отсутствие признаков воспаления и бактериального обсеменения *H. pylori* по данным ЭГДС, гистологии и цитологии, а также с отсутствием жалоб со стороны ЖКТ. Подобное разделение пациентов по группам, по-нашему мнению, является патогенетически обоснованным.

Для оценки системной цитокиновой реакции макроорганизма провели определение уровней сывороточных цитокинов: ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИФ $\gamma$ . Было получено, что при изменениях в СО (поверхностное воспаление, деструктивные изменения) их уровень был достоверно выше ( $p < 0,05$ ), чем в группе сравнения. В то же время при деструкции слизистой оболочки уровень ИФ $\gamma$  существенно выше, чем в группе сравнения и при поверхностном воспалении ( $p < 0,001$ ), (рис. 1).



**Рис. 1.** Уровень сывороточных цитокинов при хроническом воспалении СО гастродуоденальной области

Исследования биопсийного материала СО гастродуоденальной области методом ПЦР показали высокую встречаемость, до 80%, патогенных штаммов *H. pylori* при хронических воспалительных заболеваниях желудка и двенадцатиперстной кишки. При эрозивно-язвенных изменениях СО была выявлена высокая частота обнаружения ульцерогенных штаммов  $\text{cagA}^+ \text{vacA}^+$  — *H. pylori*, а при поверхностном гастрите обнаруживали преимущественно слабопатогенные  $\text{cagA}^- \text{vacA}^-$  штаммы.

Наряду с *H. pylori* в биопсийном материале обнаруживали наличие специфических участков ДНК вирусов герпеса: ЦМВ, ЭБВ, ВГЧ-6, ВГЧ-7 и ВГЧ-8 (рис. 2).

Оценку уровней экспрессии мРНК цитокинов проводили в очаге воспаления СО. Для этого дополнительно пациентов разделили на группы в зависимости от типа инфицирования СО: моноинфицирование *H. pylori*, вирусное инфицирование и бактериально-вирусное инфицирование (*H. pylori* и вирусы герпеса).

При моноинфицировании *H. pylori* в очаге воспаления определялись невысокие уровни экспрессии мРНК ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, ИФН $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ , тогда как при вирусном инфицировании местная иммунная реакция развивалась преимущественно по Th 1 типу с высокой экспрессией мРНК ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-10, ИФН $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ . Высокий уровень экспрессии мРНК ИЛ-18 имел место при всех типах инфицирования.

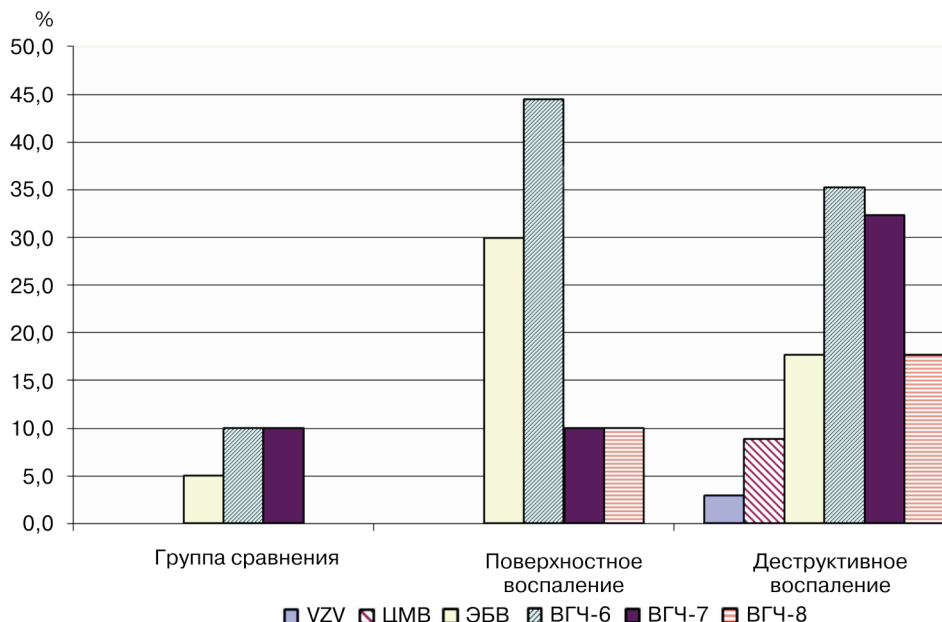


Рис. 2. Частота обнаружения вирусов герпеса в СО у пациентов исследуемых групп

При смешанной бактериально-вирусной инфекции наблюдались высокие уровни экспрессии мРНК всех исследованных цитокинов (рис. 3).

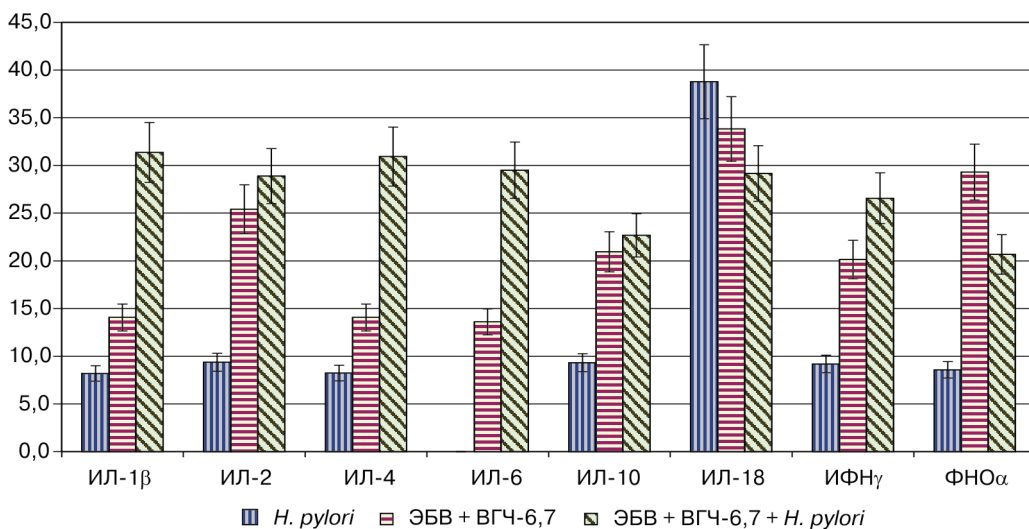


Рис. 3. Уровни экспрессии мРНК цитокинов при бактериальном, вирусном и вирусно-бактериальном инфицировании в очагах воспаления

В результате проведенных исследований было установлено, что наряду с *H. pylori* в развитии хронических воспалительных заболеваний гастроудоденальной области принимают участие вирусы герпеса. Частота их выявления связана с характером и объемом деструктивных изменений слизистой оболочки. Обнаружено, что не у всех пациентов с воспалительными изменениями слизистой оболочки

определялся *H. pylori*. В этих случаях в слизистой оболочке определяли наличие одного или двух представителей вирусов герпеса.

В зависимости от типа инфицирования наблюдается различный спектр и уровень экспрессии мРНК цитокинов в зоне воспаления слизистой оболочки ЖКТ. При бактериальном инфицировании *H. pylori*, как и при вирусной моноинфекции, местная иммунная реакция развивается преимущественно по Th 1 типу с высокими уровнями экспрессии мРНК ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-10, ИФН $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ .

Более пристального внимания заслуживает местная иммунная реакция при бактериально-вирусной коинфекции. Высокие уровни экспрессии мРНК исследованных цитокинов при смешанном инфицировании могут свидетельствовать о неадекватной иммунной реакции в очаге воспаления. Разнонаправленные иммунологические события, развивающиеся при бактериально-вирусном инфицировании, как по Th 1, так и по Th 2 типу с высвобождением большого количества биологически активных веществ в пораженной слизистой оболочке и обуславливают, по нашему мнению, развитие глубоких деструктивных процессов.

Таким образом, определение типа инфицирования при гастродуоденальной патологии имеет большое значение для выбора тактики лечения данных пациентов. В большинстве случаев не учитывается часто встречающийся бактериально-вирусный характер инфицирования слизистой оболочки при гастродуоденальной патологии и в связи с этим применяются традиционные схемы лечения, направленные на эрадикацию только *H. pylori*. В комплексе диагностических мероприятий следует использовать методы, позволяющие выявлять не только *H. pylori*, но и возможную контаминацию вирусами. Такой подход позволит выбирать адекватную тактику лечения с назначением как антибактериальных, так и противовирусных препаратов с индивидуальным подбором иммуномодуляторов.

Коллектив авторов выражает благодарность врачам-эндоскопистам Е.О. Кузнецову, Т.И. Долговой, В.Б. Гречушникову, г. Москва за помощь в проведенной работе.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Андерсен Л., Норгаард А., Беннедсен М. Клеточный иммунный ответ организма на инфекцию *Helicobacter pylori* // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 1999. — Т. IX. — № 2. — С. 22—26.
- [2] Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. — М.: Триада-Х, 1998. — 496 с.
- [3] Дерффель К. Статистика в аналитической химии. — М.: Мир, 1994. — 242 с.
- [4] Исаков В.А., Домарадский И.В. Хеликобактериоз. — М.: Медпрактика-М, 2003. — 412 с.
- [5] Нелюбин В.Н., Мудров В.П. Бактериально-вирусное коинфицирование слизистой оболочки при гастродуоденальной патологии // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2004. — № 2. — С. 111—115.
- [6] Gonelli A., Voccia S., Boni M. et al. Human herpesvirus 7 is latent in gastric mucosa // J. Med. Virol. — 2001. — 63(4). — P. 277—83.
- [7] Lindholm C., Quiding-Jarbrink M., Lonroth H. et al. Induction of chemokine and cytokine responses by *Helicobacter pylori* in human stomach explants // Scand. J. Gastroenterol. — 2001. — 36(10). — P. 1022—9.

- [8] Scott Algood H.M., Cover T.L. *Helicobacter pylori* Persistence: an Overview of Interactions between *H. pylori* and Host Immune Defenses // *Clinical Microbiology Reviews*. — 2006. — Vol. 19. — No. 4. — P. 597—613.
- [9] Stromberg E., Edebo A., Svennerholm A.M. et al. Decreased epithelial cytokine responses in the duodenal mucosa of *Helicobacter pylori*-infected duodenal ulcer patients // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* — 2003 Jan. — 10(1). — P. 116—24.
- [10] Tsamakidis K., Panotopoulou E., Demitroulopoulos D. et al. Herpes simplex virus type 1 in peptic ulcer disease: an inverse association with *Helicobacter pylori* // *World. J. Gastroenterol.* — 2005. — 11(42). — P. 6644—6649.

## **CYTOKINE REGULATION OF IMMUNE RESPONSE AGAINST BACTERIAL AND VIRAL CO-INFECTION OF GUT, CAUSED BY H. PYLORI AND HERPESVIRIDAE**

**V.N. Nelyubin, V.P. Mudrov**

Central Hospital No. 6 of the Russian Railways JSC  
*Shosseynaya str., 43, Moscow, Russia, 109388*

**A.V. Chekanov**

Russian State Medical University  
*Ostrovityanova str., 1, Moscow, Russia, 117513*

**R.I. Sepiashvili**

Institute of Immunophysiology  
*Ostrovityanova str., 4, Moscow, Russia, 117513*

104 patients with the inflammatory diseases of stomach and duodenum were investigated. Levels of the IL-1 $\beta$ , IL-2, IFN- $\gamma$  in blood serum were detected by ELISA. For detection of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) and Herpes viridae in biopsies from the zone of inflammation polymerase chain reaction (PCR) was used. Expression of mRNA cytokines: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  in biopsies from 37 patients was detected by real time PCR. Results of biopsies revealed high frequency of detection of pathogenic strains of *H. pylori* (80%) and Herpes viridae (EBV, HHV-6, HHV-7, HHV-8) in various combinations. The increased levels of IL-1 $\beta$ , IL-2, IFN- $\gamma$  in serum and of mRNA cytokines in infected mucous membrane were observed.

**Key words:** GUT, *H. pylori*, Herpes viridae, cytokines, mRNA.