

УДК [616.33-002.2-02-091/92]:616.34-002

Адаптивный иммунитет у больных хроническими заболеваниями желудка и кишечника

Н.Л. Денисов¹, В.Т. Ивашкин²¹Северо-западный окружной медицинский центр Росздравнадзора,²Клиника пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова)

Adaptive immunity at patients with chronic diseases of the stomach and intestine

N.L. Denisov, V.T. Ivashkin

Цель исследования. Определить патогенетическую значимость изменений общего (адаптивного) иммунитета у больных хроническими заболеваниями желудка и кишечника.

Материал и методы. В исследование были включены 68 больных хроническим активным *H. pylori*-позитивным гастритом (ХГ Н.р.+), 41 – хроническим активным *H. pylori*-негативным гастритом (ХГ Н.р.–), 34 – хроническим мультифокальным атрофическим гастритом (ХМФАтГ), 36 – язвенной болезнью желудка (ЯБЖ), 31 пациент с синдромом раздраженного кишечника (СРК), 34 – с синдромом раздраженного кишечника с диареей (СРКсД), 34 – с синдромом мальабсорбции (СМ), 41 – с глютеновой энтеропатией (ГЭ) и 39 больных язвенным колитом (ЯК). Группу контроля составили 65 практически здоровых лиц.

Общее количество Т-лимфоцитов, а также абсолютное и относительное содержание их субпопуляций определяли на проточном цитометре EPICS C Coultronics USA и Facscan Becton Dicenson по стандартной методике с использованием моноклональных антител «ORTHO» USA, Becton Dicenson или Dako. Выявляли лимфоциты с рецепторами к CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ и В-лимфоциты, несущие иммуноглобулиновые рецепторы А, М, G. Количество Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и их субпопуляций, а также Т4/Т8 соотношение и количество активных Т-клеток анализировали в каждой из указанных групп пациентов.

Результаты. Содержание в периферической крови Т3⁺-клеток (общий маркер Т-лимфоцитов) при хронических заболеваниях желудка достоверно не отличалось от нормы за исключением группы ЯБЖ, где этот показатель достоверно превышал контрольные цифры, отмечалось увеличение концентрации Т4⁺-лимфоцитов по сравнению с группами ХГ Н.р.– и ХМФАтГ.

Aim of investigation. To determine the pathogenic significance of changes of general (adaptive) immunity in patients with chronic diseases of the stomach and intestine.

Material and methods. Original study included 68 patients with chronic active *H. pylori*-positive gastritis (CG H.p.+), 41 – chronic active *H. pylori*-negative gastritis (CG H.p.–), 34 – chronic multifocal atrophic gastritis (CMfAtrG), 36 – with peptic ulcer of the stomach (PUS), 31 patient with irritable bowel syndrome (IBS), 34 - with irritable bowel syndrome with diarrhea (IBSD), 34 - with malabsorption syndrome (MS), 41 – with celiac disease (CD) and 39 patients with ulcerative colitis (UC). The control group consisted of 65 generally healthy patients.

Total number of T lymphocytes, along with absolute and relative contents of their subpopulations was determined by flow-cytometer EPICS C Coultronics USA and Facscan Becton Dicenson by standard procedure with application of monoclonal antibodies «ORTHO» USA, Becton Dicenson or Dako. Lymphocytes with receptors to CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and B-lymphocytes carrying immunoglobulin receptors A, M, G were detected. Quantity of T-lymphocytes, B-lymphocytes and their subpopulations, as well as T4/T8 ratio and quantity of active T-cells were analyzed in each of the specified groups of patients.

Results. The contents of T3⁺-cells (general T-lymphocytes marker) in peripheral blood at chronic diseases of the stomach did not differ significantly from normal range except for the group of PUS, in which this parameter significantly exceeded control values, increase of T4⁺-lymphocytes concentration was found in comparison to of CG H.p.– and CMfAtrG groups.

Comparative analysis of studied adaptive immunity parameters at chronic bowel diseases showed much higher diversification of immune system changes, than

Сравнительный анализ изученных показателей адаптивного иммунитета при хронических заболеваниях кишечника продемонстрировал значительно большее разнообразие изменений в иммунной системе, чем при болезнях желудка. Наиболее выраженные нарушения в субпопуляционном составе Т- и В-лимфоцитов наблюдались в группах ЯК и ГЭ. При СРКсД и СМ они становились менее заметными и практически не отличались от контрольных значений при СРК.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют в пользу двух обстоятельств. *Во-первых*, при ЯК отмечается выраженное повышение активности адаптивного иммунитета. *Во-вторых*, исследование показателей адаптивного иммунитета имеет диагностическое и дифференциально-диагностическое значение в клинической энтерологии и колопроктологии.

Ключевые слова: хронические заболевания желудка и кишечника, адаптивный иммунитет.

Хронические заболевания желудка и кишечника — наиболее часто встречающиеся страдания человека. Такие болезни, как *хронический гастрит* (ХГ) и *язвенная болезнь* (ЯБ) прочно занимают верхние строчки во всех клинико-эпидемиологических исследованиях заболеваемости населения различных стран, в том числе Российской Федерации. По данным Минздравсоцразвития РФ, количество зарегистрированных больных с хроническими болезнями желудка и кишечника в России в 2000–2001 гг. колебалось в пределах 4,3–4,4 млн человек.

Достижения современной клинической иммунологии [2] позволяют напрямую связать процессы инициации и хронизации воспаления в желудочно-кишечном тракте с патологическими изменениями в неспецифическом (иннатном) и специфическом (адаптивном) иммунитете [1, 4, 6].

Исследования патогенеза воспалительных заболеваний кишечника развиваются по трем главным направлениям [15]. *Во-первых*, поиск генетических нарушений, определяющих состояние барьерной функции эпителия, а также иннатного и адаптивного иммунитета [3, 7]. *Во-вторых*, изучение факторов внешней среды, влияющих на состояние в большей степени комменсальной флоры и приобретение последней патогенетического потенциала в отношении функции иммунной регуляции, нарушения которой непосредственно связаны с развитием воспалительных заболеваний кишечника [8]. *В-третьих*, создание животных моделей, имеющих многочисленные признаки, присущие язвенному колиту и указывающие на микробную составляющую в развитии иммунопатологических изменений в слизистой оболочке кишечника при данном заболевании [14].

at stomach diseases. The most severe disorders in subpopulation content of T- and B-lymphocytes were observed in groups of UC and CD. At IBS and MS they became less apparent and virtually did not differ from control values at IBS.

Conclusion. Obtained data are in favor of two points. *First*, at UC severe elevation of activity of adaptive immunity is revealed. *Second*, investigation of parameters of adaptive immunity has diagnostic and differential-diagnostic value for clinical enterology and coloproctology.

Key words: chronic diseases of the stomach and intestine, adaptive immunity.

Помимо этого необходимо иметь в виду уже доказанные факты того, что участие иммунной системы в патогенезе заболеваний кишечника должно рассматриваться с точки зрения взаимодействия двух тесно связанных, взаимодополняющих, но относительно автономных ее звеньев. Первое звено — это общая иммунная система, которая морфологически и функционально рассматривается как производное от кровяной и лимфатической систем. Второе звено — иммунная система слизистых оболочек, которая в структурном и функциональном отношении неотделима от органов и систем, выполняющих среди прочих и барьерную функцию разграничения между макроорганизмом и внешней средой [4, 5, 11, 13].

И, наконец, еще одно важное обстоятельство — это существование явных параллелей в развитии как местных, так и системных иммунопатологических реакций при воспалительных заболеваниях кишечника и *H. pylori*-ассоциированных болезнях желудка [9, 10, 12].

Цель исследования состояла в определении патогенетической значимости изменений общего (адаптивного) иммунитета у больных хроническими заболеваниями желудка и кишечника.

Материал и методы исследования

Определялось содержание в периферической крови основных показателей клеточного звена иммунитета у 179 больных хроническими заболеваниями желудка и 179 пациентов, страдающих хроническими заболеваниями кишечника. Группу контроля составили 65 практически здоровых лиц.

Общее количество Т-лимфоцитов, а также абсолютное и относительное содержание их субпопуляций определяли на проточном цитомет-

ре EPICS C Cultronics USA и Facscan Vecton Dicenson по стандартной методике с использованием моноклональных антител «ORTHO» USA, Vecton Dicenson или Dako. Выявляли лимфоциты с рецепторами к CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ и В-лимфоциты, несущие иммуноглобулиновые рецепторы А, М, G. Количество Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и их субпопуляций, а также Т4/Т8 соотношение и количество активных Т-клеток анализировалось в каждой из групп пациентов с хроническими заболеваниями желудка и кишечника. В исследовании были включены 68 больных *хроническим активным H. pylori-позитивным гастритом* (ХГ Н.р.+), 41 – *хроническим активным H. pylori-негативным гастритом* (ХГ Н.р.–), 34 – *хроническим мультифокальным атрофическим гастритом* (ХМфАтГ), 36 – *язвенной болезнью желудка* (ЯБЖ), 31 пациент с *синдромом раздраженного кишечника* (СРК), 34 – *синдромом раздраженного кишечника с диареей* (СРКсД), 34 – с *синдромом мальабсорбции* (СМ), 41 – с *глютенной энтеропатией* (ГЭ) и 39 больных *язвенным колитом* (ЯК).

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнительный анализ изученных показателей общего иммунитета выявил их выраженную дифференциацию в зависимости от конкретной нозологической формы. Уровень в периферической крови ТЗ⁺-клеток (общий маркер Т-лимфоцитов) при **заболеваниях желудка** достоверно не отличался от нормы за исключением пациентов, страдающих ЯБЖ, у которых среднее значение ТЗ⁺-клеток достоверно превышало контрольные цифры (соответственно 1370±147 против 1060±73). В группе ХГ Н.р.+ в отличие от групп ХГ Н.р.–, ХМфАтГ и практически здоровых данный показатель имел выраженную тенденцию к повышению (1293±112 против 1069±84, 1091±106 и 1060±73).

Содержание в крови активных Т-лимфоцитов не имело статистически достоверных межгрупповых различий. Тем не менее, у больных ЯБЖ и ХГ Н.р.+ было отмечено заметное увеличение концентрации активных Т-лимфоцитов в сравнении с пациентами из других групп исследования и контроля.

Количественная оценка популяции Т4⁺-клеток у больных хроническими заболеваниями желудка в сравнении с практически здоровыми людьми также не выявила статистически достоверных различий. При исследовании данного показателя была обнаружена выраженная межгрупповая дифференциация обследованных пациентов. Наиболее ярко она проявилась у больных ЯБ, для которых оказалось характерным статистически достоверное увеличение концентрации Т4⁺-лимфоцитов

по сравнению с группами ХГ Н.р.– и ХМфАтГ (720±34 против 599±37 и 560±55).

Популяция Т8⁺-клеток во всех группах исследования превышала контрольные значения. Однако статистически достоверные различия с практически здоровыми людьми наблюдались только у пациентов, страдающих язвенной болезнью желудка и *H. pylori*-позитивным хроническим гастритом (соответственно 604±56 и 552±37 против 410±45).

Соотношение Т4/Т8 субпопуляций лимфоцитов имело тенденцию к снижению относительно контроля в группах больных различными видами хронического гастрита. У больных ЯБ этот показатель практически не отличался от нормы.

В концентрации субпопуляций В-лимфоцитов не выявлено достоверных различий в зависимости от вида патологического процесса в желудке или от наличия геликобактерной инфекции.

Сравнительный анализ изученных показателей адаптивного иммунитета при **заболеваниях кишечника** продемонстрировал значительно большее разнообразие изменений в иммунной системе, чем при болезнях желудка.

Уровень ТЗ⁺-клеток в периферической крови в большинстве групп обследованных больных имел выраженную тенденцию к повышению, при этом у пациентов с ЯК и ГЭ он был достоверно выше контроля (соответственно 1675±95 и 1409±99 против 1060±73). При СРКсД увеличение данного показателя было статистически недостоверным (1235±111). В случае СМ и СРК он практически не отличался от нормы (1077±94 и 1051±49 против 1060±73), но был достоверно меньше чем у больных ЯК и ГЭ.

Содержание в крови активных Т-лимфоцитов у больных, страдающих ЯК, характеризовалось значительным увеличением, которое было статистически достоверным относительно других групп исследования. Аналогичная, но несколько менее выраженная динамика наблюдалась у пациентов с ГЭ, у которых этот показатель был достоверно меньшим, чем в группе ЯК (761±58 против 923±33) и достоверно большим, чем в остальных группах за исключением контроля (761±58 против 404±45, 445±61, 490±45 и 404±45). У больных с СРКсД и СМ концентрация активных Т-лимфоцитов была наименьшей по сравнению с другими пациентами и имела достоверные различия с практически здоровыми людьми (соответственно 404±45 и 445±61 против 653±71). Для лиц, страдающих СРК, снижение изученного показателя относительно контроля оказалось также характерным, однако достоверные различия между сравниваемыми результатами отсутствовали (490±45 против 653±71).

Количественная оценка субпопуляции Т4⁺-клеток у больных хроническими заболеваниями кишечника в сравнении с практически здоровыми

выявила увеличение их содержания в крови во всех группах за исключением пациентов с СРК (соответственно 664 ± 28 против 675 ± 79).

Наиболее резкое увеличение концентрации $T4^+$ -клеток наблюдалось при ЯК. Высокостатистические различия были зафиксированы при сопоставлении результатов, полученных в этой группе, в сравнении с шестью остальными. У пациентов с СРК количество $T4^+$ -клеток было достоверно меньшим (838 ± 33 против 664 ± 28). В группах больных с хронической патологией тонкой кишки (СРКсД, СМ и ГЭ) выявленная тенденция к повышению изученного показателя была достаточно заметной при сравнении с его контрольными значениями, однако не носила статистически достоверного характера (соответственно 719 ± 68 , 781 ± 78 , 741 ± 44 против 675 ± 79).

Субпопуляция $T8^+$ -лимфоцитов во всех группах исследования в количественном отношении превышала аналогичный показатель в группе практически здоровых лиц. Максимально высокие значения зафиксированы у пациентов, страдающих ЯК, а также у больных с СРКсД. Различия в показателях были статистически достоверными (соответственно 590 ± 34 и 553 ± 54 против 410 ± 45). В остальных группах за исключением больных ГЭ тенденция к увеличению концентрации $T8^+$ -клеток в крови была заметной, но при сравнении с контролем статистически достоверных различий не обнаружено.

Изменение соотношения $T4/T8$ субпопуляций лимфоцитов в группах исследования происходило в разных направлениях. У пациентов с СРК и СРКсД при сравнении с практически здоровыми людьми отмечена тенденция к его снижению относительно контроля, однако различия были статистически недостоверными (соответственно $1,44 \pm 0,07$ и $1,42 \pm 0,07$ против $1,6 \pm 0,07$). В группе больных с СМ наблюдался недостоверный рост данного соотношения ($1,92 \pm 0,25$ против $1,6 \pm 0,07$). Значимые различия при сравнении с контролем обнаружены у больных, страдающих ГЭ и ЯК (соответственно $2,35 \pm 0,22$ и $1,9 \pm 0,09$ против $1,6 \pm 0,07$). Выраженными они были при сравнении между собой объединенных групп больных. Показатели у лиц, страдающих ГЭ и ЯК, значительно превосходили результаты, полученные у пациентов с СРК и СРКсД ($2,35 \pm 0,22$ и $1,9 \pm 0,09$ против $1,42 \pm 0,07$ и $1,44 \pm 0,07$).

Количественный анализ уровня В-лимфоцитов и их субпопуляций выявил наличие достоверных различий в величине показателей В-звена общего иммунитета как между группами обследованных больных, так и при сравнении их с группой контроля. Максимальная концентрация В-лимфоцитов в периферической крови установлена у больных ЯК. Она достоверно превышала таковую у пациентов других групп и практически здоровых (501 ± 48). В остальных группах содержание

В-лимфоцитов мало отличалось от контрольных значений за исключением пациентов, страдающих ГЭ. В этой группе также наблюдался рост уровня В-клеток, несколько менее выраженный, чем у больных ЯК, но имевший достоверный характер (377 ± 31).

Количество Ва-лимфоцитов у обследованных больных в большей или меньшей степени превышало аналогичный показатель у практически здоровых лиц. Достоверные различия с контрольной группой наблюдались только у больных ЯК (75 ± 4 против 41 ± 7). Практически равными, но заметно меньшими, чем при ЯК, были значения у пациентов остальных групп (75 ± 4).

Изменения содержания Вg-лимфоцитов относительно контроля были не столь однородными как при исследовании предыдущего показателя. Во всех группах за исключением пациентов, страдающих ЯК и ГЭ, количество Вg-лимфоцитов было либо равным контрольным цифрам, либо незначительно уступало им (соответственно 61 ± 6 , 72 ± 6 , 69 ± 6 и 66 ± 5 против 75 ± 10). В упомянутых выше группах этот показатель существенно, особенно при ЯК (150 ± 10), превосходил аналогичные показатели в других группах, включая больных ГЭ (112 ± 10 против 150 ± 10).

Количество Вm-лимфоцитов превышало контрольный показатель только у больных ЯК (соответственно 163 ± 10 против 121 ± 17). Между собой и по сравнению с контролем группы исследования различались незначительно за исключением пациентов с СРКсД и СМ, для которых оказалось характерным наличие достоверных различий с группой ЯК.

Заключение

Проведенное исследование позволяет констатировать отсутствие выраженных изменений в адаптивном иммунитете при хронических заболеваниях желудка. Вместе с тем достоверное повышение в периферической крови $T3^+$ - и $T4^+$ -клеток при язвенной болезни относительно других заболеваний желудка указывает на активацию общей иммунной системы в ответ на ulcerацию его слизистой оболочки.

При хронических заболеваниях кишечника определены более выраженные изменения в состоянии адаптивного иммунитета. Причем они носили явно дифференцированный характер в зависимости от нозологической формы. Наиболее яркие изменения наблюдались у больных ЯК. В других группах за исключением пациентов с СРК большинство показателей также достоверно превышало норму, однако их значения были заметно меньшими, чем при ЯК.

На наш взгляд, полученные данные свидетельствуют в пользу двух обстоятельств. *Во-первых*, при ЯК отмечается выраженное повышение

активности адаптивного иммунитета. *Во-вторых*, исследование показателей адаптивного иммунитета имеет как диагностическое, так и дифферен-

циально-диагностическое значение в клинической энтерологии и колопроктологии.

Список литературы

1. Денисов Н.Л. Клинико-иммунологические аспекты патогенеза, диагностики и лечения хронических воспалительных заболеваний кишечника (хронического энтерита и хронического колита): Дис. ... канд. мед. наук. — Л., 1990. — 177 с.
2. Ивашкин В.Т. Основные понятия и положения фундаментальной иммунологии // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2008. — Т. 18, № 3. — С. 4–13.
3. Arseneau K.O., Tamagawa H., Pizarro T.T., Cominelli F. Innate and adaptive immune responses related to IBD pathogenesis // Curr. Gastroenterol. Rep. — 2007. — Vol. 9, N.6. — P. 508–512.
4. Biemnenstock J., Ernst P.B., Underdown B.J. The gastrointestinal tract as an immunologic organ-state of the art // Ann. Allergy. — 1987. — Vol. 59, N. 5 (Pt. 2). — P. 17–20.
5. Brandtzaeg P., Haraldsen G., Rugtveit J. Immunopathology of human inflammatory bowel disease // Springer Semin. Immunopathol. — 1997. — Vol. 18, N 4. — P. 555–589.
6. Furrie E., Macfarlane S., Cummings J. H., Macfarlane G.T. Systemic antibodies towards mucosal bacteria in ulcerative colitis and Crohn's disease differentially activate the innate immune response // Gut. — 2004. — Vol. 53, N 1. — P. 91–98.
7. Kaser A., Blumberg R.S. Adaptive immunity in inflammatory bowel disease: state of the art // Curr. Opin. Gastroenterol. — 2008. — Vol. 24, N 4. — P. 455–461.
8. Macdonald T.T., Monteleone G. Immunity, inflammation, and allergy in the gut // Science. — 2005. — Vol. 307, N 5717. — P. 1920–1925.
9. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C. et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report // Gut. — 2007. — Vol. 56, N 6. — P. 772–781.
10. Moyaert H., Franceschi F., Roccarina D. et al. Extragastric manifestations of *Helicobacter pylori* infection: other Helicobacters // Helicobacter. — 2008. — Vol. 13 (suppl. 1). — P. 47–57.
11. Nagura H., Ohtani H. Mucosal immune system and mucosal inflammation // Bioregulation and its disorders in the gastrointestinal tract. — Tokyo: Blackwell Science, 1998. — P. 95–104.
12. Nagura H., Ohtani H., Sasano H., Matsumoto T. The immuno-inflammatory mechanism for tissue injury in inflammatory bowel disease and *Helicobacter pylori*-infected chronic active gastritis. Roles of the mucosal immune system // Digestion. — 2001. — Vol. 63 (suppl. 1). — P. 12–21.
13. O'Mahony S., Arranz E., Barton J.R., Ferguson A. Dissociation between systemic and mucosal humoral immune responses in coeliac disease // Gut. — 1991. — Vol. 32, N 1. — P. 29–35.
14. Shih D.Q., Targan S.R. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease // World J. Gastroenterol. — 2008. — Vol. 14, N 3. — P. 390–400.
15. Xavier R.J., Podolsky D.K. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease // Nature. — 2007. — Vol. 448, N 7152. — P. 427–434.