

УДК 616.33-002.44-022:579.835.12

**ЦИТОКИНЫ У БОЛЬНЫХ ХЕЛИКОБАКТЕРНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ
(ХРОНИЧЕСКИЙ ГАСТРИТ В, ЯЗВЕННАЯ БОЛЕЗНЬ ЖЕЛУДКА)**

М.И. Дворкин, М.И. Китаев

Представлены результаты изучения у больных хеликобактериозом провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , ИФН- γ и противовоспалительного цитокина ИЛ-4. Отмечено, что противохеликобактерное лечение в течение 6 месяцев, несмотря на клиническое улучшение, не приводит к нормализации в крови цитокинового спектра

Ключевые слова: цитокины; цитокиновый баланс; хеликобактериоз.

**CYTOKINES BY THE PATIENTS WITH HELICOBACTER PYLORI INFECTION
(GASTRITIS B AND ULCER DISEASE)**

M.I. Dvorkin, M.I. Kitaev

The article presents results of studying in patients helicobacteriozy pro-inflammatory cytokines such as: interleukin (IL-6), interleukin (IL-8), FNO- α , IFN- γ and resolvent cytokine IL-4. It is noticed that antihelicobacter treatment during 6 months despite clinical improvement, does not lead to normalization in the blood of cytokines range.

Keywords: cytokines; cytokines balance; helicobacteriosis.

Актуальность. В ряде исследований последнего времени показана причинная роль хеликобактерной инфекции в патогенезе хронического гастрита В и язвенной болезни желудка. В настоящее время имеются все основания утверждать, что *Helicobacter Pylori*, выделенная Б. Маршаллом и Д. Уорреном, играет ведущую роль в этиопатогенезе этого заболевания [1]. Носителями инфекции являются большинство жителей нашей планеты [2, 3]. По мнению Hugo Lagunes [4], НР-инфекция приобретает в основном в детстве и переходит в хроническую форму во взрослом возрасте.

Получены убедительные доказательства пусковой роли иммунных механизмов в развитии этой патологии [5–8].

В последние годы особое внимание привлекает цитокиновая сеть, обеспечивающая взаимосвязь иммунокомпетентных и других клеток через специфические рецепторы на клетках-мишенях [9].

Цитокины – это гликопротеиды с низкой молекулярной массой, синтезируемые практически всеми клетками организма. Каждый цитокин служит индуктором экспрессии каскада других цитокинов и их рецепторов. При воздействии на клетку цитокины связываются со специфическими рецепторами [10].

Межклеточная сигнализация в иммунной системе осуществляется с помощью интерлейкинов – белков связи. В норме при первичном иммунном ответе цитокины не поступают в общую циркуляцию. Появление их в кровотоке наблюдается при интенсивных воспалительных процессах [11]. Система цитокинов играет важнейшую роль в регуляции воспалительных процессов [12].

Условно цитокины делят на две группы: провоспалительные и противовоспалительные. Провоспалительные цитотоксины играют ключевую роль в развитии воспаления, они являются показателями тяжести и активности патологического процесса. Противовоспалительные цитокины ограничивают развитие воспаления. Соотношение этих двух видов цитокинов определяет цитокиновый статус больного [13]. У инфицированных НР пациентов обнаружена дисрегуляция цитокинов в желудочковой секреции [14–17]. Высокий уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке является неблагоприятным признаком течения язвенной болезни желудка [18]. При хеликобактерной инфекции эти показатели изучены недостаточно.

Целью настоящего исследования являлось изучение цитокинового статуса у больных хеликобак-

терной инфекцией на разных этапах, течения заболевания (хронический гастрит В, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки).

В задачи исследования входило определение в общей циркуляции больных содержания провоспалительных (ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , ИНФ- γ) и противовоспалительного (ИЛ-4) цитокинов.

ИЛ-6 – белок острой фазы воспаления. Продуцируется лимфоцитами и макрофагами. Его концентрация в сыворотке возрастает при воспалительных процессах. На ранних стадиях воспаления он более чувствителен, чем С-реактивный белок [11].

ИЛ-8 – провоспалительный цитокин синтезируется Т-лимфоцитами и моноцитами, особенно при воспалительных заболеваниях кишечника и заражения хеликобактерной инфекцией [4, 18].

ФНО- α – мощный цитокинзависимый провоспалительный цитокин, способствует развитию клеточного типа иммунного ответа, необходимого для эффективной защиты против внутриклеточных паразитирующих бактерий и вирусов. Клетками-продуцентами этого типа цитокинов являются макрофаги, моноциты, Т- и В-лимфоциты.

Интерфероны блокируют репродукцию вирусов. ИНФ- γ синтезируются Т-лимфоцитами и НК, регулируют специфический иммунный ответ и неспецифическую резистентность организма. Внутриклеточные механизмы противовирусного интерферона включают связывание вируса с клеточными рецепторами.

Важную роль в развитии иммунного ответа играют Т-хелперы, которые определяют путь и направление реактивности клетки. Известно, что Th-1-клетки секретируют преимущественно провоспалительные цитокины, которые способствуют развитию клеточно-опосредованного иммунного ответа (ИЛ-1 ФНО), а Th-2-клетки необходимы для гуморального иммунитета и оказывают противовоспалительное действие. Кроме того, цитокины играют важную роль в возвращении клеток, вовлеченных в иммунный процесс, в исходное состояние после того, как антигенные стимулы исчезли.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 100 больных хеликобактериозом, в том числе 80 – с хроническим гастритом и 20 – с язвенной болезнью желудка. Обследование больных проводилось в динамике – до лечения и через 1, 3, 6, 12 месяцев после комплексной терапии.

Верификация диагноза проводилась на основании клинического обследования с помощью неинвазивного хелик-теста (Ассоциация медицины и аналитики, г. Санкт-Петербург) и эндоскопически с гистологическим исследованием биоптата на степень микробного обсеменения.

Средний возраст больных хроническим гастритом В, включенных в исследование составляет 20–60 лет. Мужчин – 40 %, женщин – 60 %. Давность заболевания составляла: 1–3 года – 5 человек, 3–9 лет – 20, 10–15 лет – 37, свыше 15 лет – 18 больных.

Средний возраст больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки также составляет 20–60 лет. Давность заболевания: 1–3 года – 4 человека, 3–9 лет – 6, 10–15 лет – 8, свыше 15 лет – 2 человека. Мужчин – 30 %, женщин – 70 %.

Содержание в сыворотке крови цитокинов ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α и ИНФ- γ определяли фотометрически с использованием твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Для постановки анализов использовалось оборудование “Awareness Technology” и наборы реактивов производства фирмы “Санкт-Петербург”. Учет реакции проводили на ридере Stat-Fax 2100 при длине волны 450 нм. Полученные величины выражались в пг/мл. Статистическая обработка проведенных исследований проводилась по Стьюденту. Различия с редкими величинами считались достоверными при $P \leq 0,05$.

Результаты. Данные о содержании цитокинов в крови больных хеликобактерным гастритом В, язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки представлены в таблицах 1 и 2. До начала лечения содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α и ИНФ- γ у больных хеликобактерным гастритом В существенно превышало соответствующие данные у практически здоровых лиц ($P < 0,05$). Высокая концентрация провоспалительных цитокинов сохранилась в общей циркуляции через 3, 6 и даже 12 месяцев лечения, несмотря на клиническое улучшение состояния таких больных. В том же направлении менялась активность противовоспалительного цитокина (ИЛ-4).

Появление в общей циркуляции цитокинов свидетельствует о нарушении локального функционирования цитокиновой системы, что обычно наблюдается при воспалительных процессах [10].

Специфические иммунные реакции регулирует также противовоспалительный цитокин ИЛ-4, который рассматривается как маркер Т-хелперзависимых иммунных ответов [13]. Уровень противовоспалительных цитокинов в процессе лечения (см. таблицы 1, 2) был относительно высоким (свыше 20 при норме $0,2 \pm 0,1$). Низкая сопротивляемость к инфекции может быть связана с активацией Т-хелперов 2-го типа, секретирующих ИЛ-4.

В рамках изучаемого вопроса исследовалось соотношение провоспалительных (ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , ИНФ- γ) и противовоспалительного (ИЛ-4)

Таблица 1 – Динамика цитокинов у больных хеликобактерным гастритом В в процессе лечения (M ± m)

Наименование	Контроль, n = 40	До лечения, n = 80	Через 1 месяц, n = 30	Через 3 месяца, n = 21	Через 6 месяцев, n = 12	Через 12 месяцев, n = 10
Интерлейкин 4	0,2 ± 0,1	21,83 ± 4,13*	26,25 ± 7,56*	25,92 ± 8,62*	8,85 ± 3,96*	37,49 ± 15,67*
Интерлейкин 6	2,0 ± 0,26	5,18 ± 1,98*	2,01 ± 1,07	3,75 ± 1,99	7,06 ± 3,31*	0,087 ± 0,01*
Интерлейкин 8	2,0 ± 0,26	44,07 ± 10,03*	72,68 ± 11,21*	98,41 ± 19,29*	76,95 ± 12,28*	272,49 ± 112,84*
Интерферон γ	2,0 ± 0,26	23,44 ± 8,19*	70,71 ± 27,29*	91,03 ± 35,61*	193,3 ± 67,17*	-
Фактор некроза опухоли α	0,5 ± 0,15	1,79 ± 0,48*	1,38 ± 0,47	0,97 ± 0,37	7,52 ± 3,26*	22,57 ± 22,48

Примечание. * – Здесь и в таблицах 2–4 отличается от контрольных данных (P ≤ 0,05).

Таблица 2 – Динамика цитокинов у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки в процессе лечения (M ± m)

Наименование	Контроль, n = 35	До лечения, n = 20	Через 1 месяц, n = 19	Через 3 месяца, n = 10	Через 12 месяцев, n = 10
Интерлейкин 4	0,2 ± 0,1	82,22,97*	81,42 ± 24,85*	-	9,24 ± 5,43
Интерлейкин 6	2,0 ± 0,26	0,82 ± 0,5*	3,77 ± 1,9	-	0,88 ± 0,78*
Интерлейкин 8	2,0 ± 0,26	77,58 ± 12,58*	83,80 ± 25,04*	70,37 ± 11,58*	-
Интерферон γ	2,0 ± 0,26	166,31 ± 91,24*	186,6 ± 53,96*	340,91 ± 175,9*	81,13 ± 22,42*
Фактор некроза опухоли α	0,5 ± 0,15	1,79 ± 0,68*	0,53 ± 0,17	-	1,08 ± 0,98

Таблица 3 – Цитокиновый баланс у больных хеликобактерным гастритом В (M ± m)

Цитокиновый баланс	Контроль, n = 40	До лечения, n = 80	Через 1 месяц, n = 30	Через 3 месяца, n = 21	Через 6 месяцев, n = 21
ИЛ-6 ± ИЛ-8 ± ИФН γ ± ФНОα ИЛ-4	32,5 ± 9,3	3,41 ± 5,0*	5,59 ± 5,30*	7,49 ± 6,64*	32,18 ± 21,72

Таблица 4 – Соотношение провоспалительных и противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в цифровом выражении

Соотношение цитокинов	Контроль, n = 40	До лечения, n = 80	Через 1 месяц, n = 30	Через 3 месяца, n = 21	Через 6 месяцев, n = 21
ИЛ-6/ИЛ-4	10 ± 2,6	0,24 ± 0,48	0,08 ± 0,14	0,14 ± 0,23	0,8 ± 0,83
ИЛ-8/ИЛ-4	10 ± 2,6	2,02 ± 2,43	2,77 ± 1,48	3,8 ± 2,24	8,69 ± 3,1
γ-ИФН/ИЛ-4	10 ± 26	1,07 ± 1,98	2,69 ± 3,61	3,51 ± 4,13	21,84 ± 16,96
α-ФНО/ИЛ-4	2,5 ± 1,5	0,08 ± 0,12	0,05 ± 0,06	0,04 ± 0,04	0,85 ± 0,82

цитокинов у больных хроническими гастритом В на разных этапах течения заболевания (таблица 3). По нашим данным цитокиновый баланс у больных до начала лечения снижен относительно контрольной группы (P < 0,05). Смещение цитокинового баланса в провоспалительном направлении сохранялось в течение 3-х месяцев (P < 0,05). Нормализация этого показателя отмечалась спустя 6 месяцев лечения.

В таблице 4 представлено соотношение провоспалительных и противовоспалительного ИЛ-4 цитокина в цифровом выражении. До лечения и в первые 3 месяца интенсивной терапии цитокиновые соотношения существенно снижены (P < 0,05).

В целом состояние цитокиновой сети и баланса цитокинов у больных хеликобактериозом во многом определяет течение и исход заболевания. Высокий уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и особенно ИЛ-8, ИФН-γ и ФНО-α относительно контрольных данных (P < 0,05) сочетается обычно с более тяжелым течением заболевания. Уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-4 у таких больных выше нормы (P < 0,05).

Выводы

1. У больных хеликобактериозом отмечается значительное повышение в крови уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α, ИФН-γ и противовоспалительного цитокина ИЛ-4.

2. Противохеликобактерное лечение в течение 6 месяцев, несмотря на клиническое улучшение, не приводит к нормализации в крови цитокинового спектра.

3. При исследовании у больных хеликобактериозом цитокиновой сети необходимо определять соотношение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

Литература

1. *Парохонский А.П.* Особенности провоспалительной цитокиновой регуляции иммунного ответа на *Helicobacter Pylori*-инфекцию / А.П. Парохонский // Современные наукоемкие технологии. 2006. № 1. С. 78.
2. *Евстигнеев И.В.* Инфекция, обусловленная *Helicobacter pylori*: состояние проблемы и перспективы / И.В. Евстигнеев // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. 2011. № 6–7. С. 14–19.
3. *Hernandez C. et al.* Peptic ulcer disease in helicobacter pylori infected children: clinical findings and mucosal immune response // Journal of Pediatric Gastroenterology; Nutr. 07/2014 (электронная версия).
4. *Hugo Lagunes-Servin et al.* Toll-like receptors and cytokines are upregulated during *Helicobacter Pylori* // *Helicobacter*. 2013. V. 18. № 6. P. 423–432.
5. *Лазебник Л.Б.* Антитела к *Helicobacter pylori* при болезнях желудка / Л.Б. Лазебник, Т.М. Царгородцева, Т.И. Серова и соавт. // Терапевтический архив. 2006. № 2. С. 15–19.
6. *Дворкин М.И.* Иммунные сдвиги при НР-инфекции / М.И. Дворкин, И.М. Дворкин, М.И. Китаев // Физиология, морфология и патофизиология человека и животных в условиях Кыргызстана. Бишкек, 2008. С. 163–169.
7. *Захарова Н.А.* Хелик-тест и тест Сaг А серопозитивности в мониторинге диспансерной группы пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки / Н.А. Захарова // Инфекция *Helicobacter Pylori* в России: сб. конкурсных научных статей. СПб., 2010. С. 49–58.
8. *Денисов Н.Л.* Местная иммунная система и язвенная болезнь желудка / Н.Л. Денисов // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. 2009. № 1. С. 19.
9. *Ройт А.* Иммунология / А. Ройт, Дж. Брюстофф, Д. Мейл; пер. с англ. М.: Мир, 2000. С. 593.
10. *Никулин Б.А.* Оценка и коррекция иммунного статуса / Б.А. Никулин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. С. 376.
11. *Кишкун А.А.* Иммунологические и серологические исследования в клинической практике / А.А. Кишкун. М.: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2006. 536 с.
12. *Черешнев В.А.* Иммунология воспаления: роль цитокинов / В.А. Черешнев, Е.Ю. Гусев // Иммунология. 2001. Т. 3. С. 361–364.
13. *Китаев М.И.* Провоспалительные и оппозиторные цитокины при хронических обструктивных заболеваниях легких / М.И. Китаев, Б.Т. Саманчина, Э.С. Майназарова и соавт. // Вестник КРСУ. 2012. Т. 12. № 1. С. 110–112.
14. *Bontems Pet et al.* *Helicobacter Pylori* modulation of gastric and duodenal mucosal T-Cell cytokine secretions in children compared with adults // *Helicobacter*. 2003. Jun; 8(3). P. 216–226.
15. *Kosuko Sakitani et al.* Role of interleukin-32 in *Helicobacter pylori* – induced Gastric Inflammation // *Infection and immunity*. 2012. V. 80. № 11. P. 3795–3803.
16. *Maria Florentino et al.* *Helicobacter pylori* – induced. Disruption of Monolayer Permeability and Froin lammatory Cytokine Secretion in Polarized Human Gastric Epithelia Celbs // *Infection and immunity*. 2013. V. 81. № 3. P. 876–883.
17. *Chionh Y.T. et al.* Protease-activated receptor 1 suosesses H/pylori gastritis via the inhibition of macrophage cytokine secretion and infection regulatory factor 5 // *Mucosal immunology*. 2014. № 28.
18. Иммунологические аспекты патогенеза язвенной болезни / под ред. И.В. Нестеровой и В.В. Оноприева. USA/UK Edition Appleton. London; Краснодар, 2005. С. 250.