

Иммунный ответ организма на инфекцию *Helicobacter pylori*

Н.Н. Козлова, В.Д. Прокопенко

Кафедра микробиологии Российского Университета дружбы народов

The reaction of humane immune system to *Helicobacter pylori*

N.N. Kozlova, V.D. Prokopenko

Russian Peoples Friendship University, Moscow

Анотация

Обсуждается роль *Helicobacter pylori* в развитии язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. В статье рассмотрен иммунный ответ организма на данную инфекцию.

Ключевые слова

Иммунитет, *Helicobacter pylori*

Summary

Helicobacter pylori is the reason of the ulcerative disease of the stomach and duodenum. In this article described the reaction of immune system to this infection.

Keywords

Immunity, *Helicobacter pylori*

Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки представляет собой одно из наиболее распространенных заболеваний желудочно-кишечного тракта. Заболевания органов пищеварения, в особенности гастриты и язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, часто сопровождаются снижением иммунных механизмов защиты организма. Роль *Helicobacter pylori* в развитии этих заболеваний не вызывает сомнений.

Защитные механизмы слизистой оболочки желудка представляют комплексную систему, включающую:

- физический барьер - муцин, эпителиальный слой, моторика;
- экзогенные компоненты - пищевые, антиоксиданты, медикаменты, избыточный рост микроорганизмов, например бактерии рода *Laktobacillus*, и т.д.;
- секретлируемые компоненты - кислоты, гастрин, гистамин и др.;
- каскад комплемента;
- острофазовые белки, в частности С-реактивный белок, которые помогают связыванию комплемента и антигенов;

- фагоцитоз - нейтрофилы, макрофаги;
- гуморальный (В-лимфоциты, антитела) и клеточно обусловленный иммунитет (Т-лимфоциты, цитокины).

Гистопатология хронически инфицированной *Helicobacter pylori* (Н.р.) слизистой оболочки желудка характеризуется высоким количеством макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, лимфоцитов, а также тканевым повреждением.

Нейтрофилы и макрофаги топографически связаны с колонизацией Н.р. и часто оказываются между эпителиальными клетками. Фагоциты связываются молекулами MAC-1 (CD 11/18) с MAC (ICAM-1 - *intracellular adhesion molecule*) рецепторами эндотелиальных клеток. Причем, ассоциированные с Н.р. молекулы стимулируют и нарушают регуляцию и CD 11/18, и ICAM-1.

Фагоциты мигрируют к месту воспаления, с помощью хемотаксиса, поглощают микроорганизмы, инфицировавшие ткани, и уничтожают их с помощью кислородозависимого или кислородонезависимого механизмов. Количество

нейтрофилов воспалительного инфильтрата возвращается к норме после эрадикации Н.р. Роль фагоцитов в патогенезе гастроуденальных болезней, вызванных Н.р., все еще является предметом научных споров, и многие вопросы ждут разрешения.

Существует по меньшей мере два разных механизма, благодаря которым Н.р. стимулирует накопление фагоцитов в инфицированной слизистой оболочке желудка:

- не прямое рекрутирование нейтрофилов за счет стимуляции продукции эпителиального ИЛ-8, являющегося мощным хемоаттрактантом;
- высвобождение Н.р. веществ (хемотоксинов/хемокинов), которые способны стимулировать привлечение фагоцитов.

Молекулы с молекулярной массой от 3 до 150 кДа, выделенные из Н.р., демонстрируют хемотоксическую активность по отношению к фагоцитам *in vitro*. Большинство из этих хемокинов представлены нативной уреазой. субъединицами уреазы, *липополисахаридами* (LPS) и малыми полипептидами. Некоторые хемокины водорастворимы и, таким образом, способны к пенетрации через барьер слизистой оболочки желудка.

Активность Н.р. в отношении хемотаксиса фагоцитов зависит от концентрации и приводится в действие рецептором фагоцита, отличным от N-формил-метионил-фенилаланин (fMLP)-рецептора, что совершенно не характерно для других бактерий, например, *E. coli*, у которой fMLP является главным компонентом хемотаксиса. Порины с молекулярной массой 30 кДа, выделенные из Н.р., стимулируют миграцию нейтрофилов и продукцию ИЛ-8 в культуре лимфоцитов. Недавно описана новая группа хемокинов, индуцируемых Н.р. из клеток хозяина. Эти хемокины являются в основном пептидами массой от 8 до 10 кДа. Они подразделяются на две основные группы:

- подсемейство С-Х-С;
- подсемейство С-С.

Представители подсемейства С-Х-С, например, ИЛ-8, обладают специфической активностью к хемотаксису для нейтрофилов. Представители подсемейства С-С, например, белок хемотаксиса моноцитов-1 (MCP-1) RANTES, эффективны в отношении моноцитов и лимфоцитов.

Когда фагоциты достигают бактериальной клетки, последняя уничтожается либо экстрацеллюлярно высвобождаемыми фагоцитами

бактериотоксическими субстанциями, либо в фагоцитах при ее *интернализации*.

Н.р. адгезирует к поверхности фагоцита, поглощается им и заключаются в вакуоли (фагосомы), которые изредка наблюдаются *in vivo* в слизистой оболочке желудка человека. Н.р. могут быть поглощены нейтрофилами в отсутствие комплемента, но фагоцитоз облегчается опсонизацией бактерии специфическими антителами или продуктами комплемента. Никогда уничтожение бактерии, даже при интернализации, не наблюдается *in vivo*, если отсутствует сыворотка, в то время как количество убитых микробов зависит от соотношения числа фагоцитов и бактерий при условии добавления сыворотки. При этом уничтожение Н.р. наблюдалось только при избытке фагоцитов.

В присутствии комплемента интернализация и морфологическая деструкция клеток Н.р. существенно повышаются. Фагоцитоз неопсонированных Н.р. зависит от штамма, что коррелирует со способностью штаммов Н.р. стимулировать нейтрофильную продукцию *токсических радикалов кислорода* (TOR). Это также связано с язвенной болезнью.

Н.р. фагоцитируются и нейтрофилами, и моноцитами. Исследования *in vitro* показали, что Н.р. обладает способностью выживать внутриклеточно в фагоцитах по крайней мере в течение 3 ч (что превышает данные о других видах бактерий) при условии преобладания количества бактерий над фагоцитами.

Внутриклеточное выживание Н.р. представляется видоспецифичным, коррелирует с течением язвенной болезни. Н.р. обладает способностью продуцировать множество ферментов, используемых при его внутриклеточном выживании. Уреаза, каталаза и супероксиддисмутаза являются важными ферментами, нейтрализующими бактерицидные молекулы, образуемые в организме хозяина и помогающие Н.р. избежать разрушения в фагоцитах.

Последними исследованиями установлено, что «нейтрофильный кислородный взрыв» *in vitro* можно парализовать изолятом нейтрофильных доноров родственного (гомологичного) штамма Н.р. Такие механизмы выживания могут быть существенны для предотвращения гибели Н.р. при фагоцитозе *in vitro*.

Т-лимфоцитарный иммунитет против Н.р.

Поведение активированных Т-лимфоцитов определяет исход ряда заболеваний. Наши знания об индукции Т-клеточных ответов основа-

ны главным образом на результатах исследований, использующих инбредные линии мышей с различной наследственностью. На инбредных мышцах обычно можно получить воспроизводимые данные и четкие отличия по Th1- и Th2-ответам. Мыши в качестве модели дают возможность манипулировать иммунным ответом. Недостаток этих моделей состоит в том, что они не отражают более сложную систему, связанную с цитокинами, поскольку генетически мыши отличны от людей.

Т-клетки завершают свое развитие в тимусе и проникают в кровоток, из которого мигрируют в периферические лимфоидные органы. Они возвращаются в кровоток для рециркуляции до тех пор, пока не встретят свой специфичный антиген. Эти наивные Т-лимфоциты представляют небольшие отдыхающие клетки, способные к многолетнему существованию без деления и продукции цитокинов.

Наивные Т-клетки активируются при взаимодействии их со специфичным антигеном на поверхности *антигенпрезентирующих клеток* (АРС). При этом они пролиферируют и дифференцируются в Т-эффекторы. Наиболее важные АРС - дендритные клетки, для которых никакая другая функция неизвестна, и макрофаги, которые также являются фагоцитирующими клетками.

В качестве АРС могут функционировать также В-лимфоциты и нейтрофилы. После того как на периферии АРС «поймали в ловушку» антиген, они мигрируют и концентрируются в периферических лимфоидных органах.

Активированные Т-клетки продуцируют Т-клеточный фактор роста, IL-2 и экспрессируют высокоаффинные рецепторы к IL-2 на поверхности клетки, вызывая таким образом собственную пролиферацию.

Эффекторные Т-клетки принадлежат к трем функциональным классам: CD8+ *цитотоксический*, Т-лимфоцитам (CTL) и 2 классам CD4+, Т-хелперы – Th1 и Th2. Цитотоксические Т-лимфоциты уничтожают инфицированные клетки. Пептиды – антигены микроорганизмов, которые размножаются внутри клеток, не являющихся антигенпредставляющими, доставляются к клеточной поверхности молекулами МНС класса I. Комплекс „МНС класс I - антиген» распознают CD8+ Т-лимфоциты и дифференцируются в цитотоксические Т-лимфоциты, которые уничтожают инфицированные клетки.

Антигены микроорганизмов, размножающиеся интрацеллюлярно в АРС, антигены по-

глощенных микроорганизмов, располагавшихся экстрацеллюлярно, и растворимые антигены доставляются к поверхности АРС молекулами МНС класса II. Комплекс «МНС класс II - антиген» распознают CTL-лимфоциты. Если одновременно на поверхности АРС присутствуют молекулы В7, то Т-клетки размножаются и дифференцируются в Th0, которые не только продуцируют IL-2, но и выделяют небольшое количество *интерферона у* (IFN- γ), IL-4, IL-6, IL-10.

При последующей стимуляции Th0 дифференцируются в эффекторные Т-клетки – Th1 или Th2 в зависимости от влияния цитокинов в периферических лимфатических узлах. Высокая концентрация IFN- γ приводит к блокированию продукции Th2 цитокинов (IL-4 и IL-10) и возбуждению продуктов Th1 цитокинов. С другой стороны, высокая концентрация IL-10 затормозит выделение IFN- γ и усиливает Th2-реакцию.

Мононуклеарные клетки в собственной пластинке слизистой оболочки желудка представлены в основном плазматическими клетками, продуцирующими IgA, IgG и CD4+ Т-лимфоциты. В подслизистой основе часто обнаруживаются образованные Т-клетками лимфоидные агрегаты. Т-клетки в тканях и периферической крови пролиферируют в ответ на стимуляцию антигенами Н.р.

В некоторых исследованиях Н.р. - специфический ответ обнаружен у инфицированных больных. В большинстве работ выявлена пролиферация лимфоцитов как реакция на антигены Н.р. Установлено, что серопозитивные обследованные демонстрируют сниженный иммунный ответ по сравнению с серонегативными. Это привело к предположению, что Н.р. снижает выраженность клеточного иммунного ответа.

Н.р. вызывает экспрессию молекул МНС класса II и молекул В7, активирующих Т-лимфоциты на поверхности желудочных эпителиоцитов. Это может привести к местной активации наивных Т-клеток. Избыточная экспрессия молекул МНС II класса может также привести к повышенной презентации собственных антигенов и, следовательно, к аутоиммунным процессам.

Цитокины, секретируемые как реакция организма на Н.р.

Н.р. непосредственно стимулирует секрецию IL-8 желудочными эпителиоцитами. Этот цитокин вызывает миграцию полиморфно-ядерных нейтрофилов и Т-клеток к месту инфекции, явля-

ясь таким образом причиной массивного скопления иммунных клеток в активной фазе инфекции.

Антигены Н.р., проникающие через базальную мембрану, активируют макрофаги собственной пластинки и те секретируют провоспалительные цитокины - IL-1, TNF- α (*tumor necrosis factor α*) и IL-8, способствующий хемотаксису. Активированные макрофаги могут выделять IL-12, который существенно усиливает высвобождение IFN- γ натуральными киллерами (NK-клетками).

NK-клетки играют важную роль в ранней реакции организма хозяина на микроорганизмы, направляя Т-клеточную реакцию по провоспалительному типу. Это положение нашло подтверждение в работах ряда авторов, изучавших реакцию мононуклеаров периферической крови на Н.р., протекавшую по типу цитотоксичности, не рестриктированной по МНС, с выделением большого количества IFN- γ . Увеличение количества CD4+ Т-лимфоцитов наблюдалось при гастрите, ассоциированном с Н. р. у мышей и у человека. Большинство этих Т-клеток были Th1 фенотипа и секретируют IFN- γ .

Мононуклеарные клетки периферической крови человека выделяют Th1 цитокины *in vitro*. Эти цитокины присутствуют в гастробиоптатах больных хроническим гастритом, ассоциированным с Н.р.

Th1 реакция при болезнях, связанных с Н.р.

Количество доказательств связи Th1 реакции с развитием болезней при Н.р.-инфекции возрастает. Уровень IL-12 в биоптатах больных, инфицированных Н.р, прямо зависит от числа мононуклеарных клеток инфильтрата.

При сравнении клонов Т-клеток, выделенных от инфицированных Н.р. пациентов, страдающих язвенной болезнью или без нее, выявлен разный профиль цитокинов: 82% клонов Т-клеток, выделенных от больных язвенной болезнью, продемонстрировали профиль Th1 цитокинов, в то время как большинство (64%) клонов от лиц, не страдающих язвенной болезнью, - профиль Th0 цитокинов.

ICAM-1 (CD54), маркер рекрутирования Т-клеток, не увеличивается у язвенников по сравнению с таковыми у неязвенников, в то время как экспрессия рецептора к IL-2 (Т-клеточная пролиферация) повышена. Лечение IL-12 линии мышей с умеренными воспалительными изменениями привело к увеличению выраженности хеликобактерного гастрита. Линия мышей BALB/C, реагировавшая на

микроорганизмы по Th2 профилю, продемонстрировала большее количество бактерий и менее выраженный гастрит по сравнению с «Th2 линией мышей» C57BL/6.

Равновесие между Th1 и Th2 подгруппами Т-клеток при Н.р.-инфекции до конца не исследовано. Несмотря на то, что антигены Н.р. вызывают значительную Th1 реакцию, моноциты периферической крови инфицированных больных секретируют меньше Th1 цитокинов, чем в контрольной группе без Н.р. Неизвестно, является ли это следствием снижения клеточного иммунного ответа или вызвано циркуляцией специфических Т-клеток в лимфоузлах, селезенке и слизистой оболочке желудка. Индуцирование Th2 реакции может иметь благотворное влияние при Н.р.-инфекции. «Пересадка» Н.р. - специфичной Th2-клеточной линии мыши, зараженной *H. felis*, привело к уменьшению количества бактерий в желудке мыши-реципиента

Под нашим наблюдением находились 42 пациента (мужчин и женщин) с хроническим гастритом различной локализации, язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки и 24 практически здоровых пациента. Произведены ЭГДС, исследование иммунного статуса. По результатам работы можно сделать следующие выводы. Степень, тип и изменения основных характеристик иммунного статуса у пациентов с *Helicobacter pylori* инфекцией коррелирует со степенью выраженности инфекционного процесса. У лиц, инфицированных *Helicobacter pylori*, но без клинических проявлений заболевания, отмечается активационный тип иммунного ответа с наиболее выраженными изменениями в Т-клеточном и NK-клеточном звене иммунитета. Наличие клинически значимого поражения слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта *Helicobacter pylori*, выражающегося в гастрите и язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, характеризуется гиперактивацией с последующей декомпенсацией по количественным и качественным показателям. Полученные в данном исследовании результаты не оставляют сомнений в полиорганном характере вовлеченности иммунной системы при различных формах *Helicobacter pylori* инфекции - от «здорового» носительства до инфекционной болезни.

Таким образом, изучение иммунной системы слизистой оболочки при *Helicobacter pylori* инфекции открывает возможные точки приложения иммунотерапии, позволяющей модулировать местный иммунный ответ и добиваться действенной эрадикации инфекта.

Литература

1. Беяков И.М. Иммунная система слизистых. Иммунология 1997; №4: 7-12.
2. Андерсен Л., Норгаард А., Беннедсен М. Клеточный иммунный ответ организма на инфекцию *Helicobacter pylori*. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии 1999; т.IX; №2: 22-26.
3. Кононов А.В. Местный иммунный ответ на инфекцию *Helicobacter pylori*. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии 1999; т.IX; №2:15-22.
4. Хаитов Р.М., Пенегин Б.В. Иммунная система и заболевания желудочно-кишечного тракта. Вестник РАМН 1997; №11: 13-17.
5. Прокопенко В.Д., Нелюбин В.Н., Долгова Т.И., Калинина Т.И., Мудров В.П., Голдобина Э.Г., Жуков И.В., Скрипкина Г.В. Клинико-иммунологическая характеристика пациентов с поражениями слизистой желудка. VII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», Москва апрель 2000: 177.
6. Andersen L.P., Blom J., Nielsen H. Survival and ultrastructural changes of *Yelicobacter pylori* after phagocytosis by human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *Frmis* 1993; Vol.101: 61-72.
7. Czin S.J., Nedrud J.G. Immunopathology in *Helicobacter pylori* infection and disease. *Springer Semin. Immunopathol.* 1997; Vol.18: 495-513.
8. Ernst P.B., Michetti P., Smith P.D. et al. The immunology of *H. pylori* from pathogenesis to prevention. – Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997.
9. Hazell S.T., Ewans Jr. D.J. *Helicobacter pylori* catalase. *J. Gen. Microbiol.* 1991; Vol. 137: 57-61.
10. Kist M., Spigelhalter C., Moriki T., Schaeffer H.-E. Interaction of *Helicobacter pylori* (strain 151) and *Campylobacter coli* with human peripheral polymorphonuclear leucocytes. *Zbl. Bakt.* 1993; Vol. 280: 58-72.