

Л. В. Матвеева

## Выявляемость маркеров герпесвирусных инфекций при заболеваниях желудка у жителей Республики Мордовия

ФГБОУ ВПО МГУ им. Н. П. Огарева, Саранск

Обследованы 120 больных с предраковыми состояниями желудка и 30 больных раком желудка II—IV стадии. Методом твердофазного иммуноферментного анализа в сыворотке крови определяли маркеры инфекций, вызванных вирусами простого герпеса (ВПГ) 1-го и 2-го типа, цитомегаловирусом (ЦМВ), вирусом Эпштейна—Барр (ВЭБ). У большинства обследованных выявлены высокие титры маркеров герпесвирусной микстинфекции. Эти данные позволяют рекомендовать определение IgG к антигенам герпесвирусов у больных с гастропатологией и назначение соответствующих противовирусных лекарственных препаратов.

**Ключевые слова:** вирус простого герпеса, хронический гастрит, рак желудка, иммуноферментный анализ

### Detection of the Markers of Herpesvirus Infections in Stomach Diseases of Inhabitants of the Republic of Mordovia

L. V. Matveeva

Ogarev Mordovian State University, Saransk, Russia

The study included 120 patients with pre-cancer conditions of the stomach and 30 patients with gastric cancer stage II—IV. The ELISA method in the blood serum was used to determine the markers of the infection caused by Herpes simplex virus (HSV) types 1 and 2, Cytomegalovirus (CMV), and Epstein—Barr virus (EBV). The majority of the patients exhibited high titers of markers of Herpesvirus mixed infection. These data allow recommending the determination of IgG antibodies to antigens of herpesviruses in patients with the diseases of the stomach and assigning the appropriate antiviral drugs.

**Key words:** Herpes simplex virus, chronic gastritis, stomach cancer, ELISA assay

В последние годы, по данным ФГУ ЦНИИОИЗ Минздравсоцразвития РФ [16], отмечается увеличение количества лиц с впервые в жизни установленным диагнозом заболевания органов пищеварения в Приволжском федеральном округе и Республике Мордовия (РМ) при снижении общероссийского показателя. Привлекает внимание четкая тенденция к росту первичной заболеваемости населения республики гастритом, дуоденитом, язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. Рак желудка в структуре заболеваемости жителей России злокачественными новообразованиями занимает 2-е ранговое место у мужчин и 3-е — у женщин [3]. Обнадеживает наметившаяся тенденция к снижению первичной заболеваемости раком желудка [5, 16]. Заболеваемость населения РМ раком желудка в 2005 г. составляла 39,2 человека на 100 тыс. населения, в 2009 г. — 36,1 на 100 тыс. населения. Следует отметить, что единичные случаи данной патологии встречаются у лиц в возрасте 25—35 лет, что свидетельствует об омоложении рака желудка. Хотя по РМ наблюдается некоторое улучшение выявляемости рака желудка при профосмотрах и на I—II стадии заболевания, в 2009 г. 73% больных диагноз определили лишь на III—IV стадии, что обусловлено длительным практически бессимптомным течением.

Повреждению желудка с развитием воспалительно-го, эрозивно-язвенного, атрофического и/или опухолевого процесса способствует множество факторов, в том числе некоторые микроорганизмы, которые, про-

никнув в организм человека, способны длительно в нем персистировать, поддерживать хроническое воспаление, нарушать трофику тканей и нейроиммунную регуляцию. В настоящее время ученые констатируют увеличение частоты и широкомасштабное распространение заболеваний, обусловленных герпесвирусами. На территории России и в странах СНГ от хронической герпетической инфекции страдает более 25 млн человек, у которых значительно чаще развиваются иммунодефицитные состояния, аутоиммунные и онкологические заболевания, атеросклеротические и нервно-психические изменения [1, 3, 14].

Наибольшее распространение и значение в патологии человека имеют вирусы простого герпеса (ВПГ) 1-го и 2-го типа, цитомегаловирус (ЦМВ) и вирус Эпштейна—Барр (ВЭБ). Установлено, что более 90% жителей всех стран мира инфицировано одним или несколькими серовариантами герпесвирусов, антитела к ВПГ-1 выявляются у 99%, а к ВПГ-2 — у 73% населения [14]. Антитела к ВЭБ обнаруживают у 60% детей первых двух лет жизни и у 80—100% взрослых [2, 7]. Герпесвирусы оказывают разрушительные воздействия на многие клетки организма. Так, ВЭБ может поражать эпителий ротоглотки, протоков слюнных желез, желудочно-кишечного тракта, эндотелий сосудов, CD3<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>-лимфоциты, нейтрофилы, макрофаги, хотя основными клетками-мишенями являются В-лимфоциты [12]. Персистенция вирусов семейства Herpesviridae в организме человека может вызывать латентную, хроническую и медленную инфекцию [6].

Контактная информация:

Матвеева Любовь Васильевна, канд. мед. наук, доц.; e-mail: inst-med@adm.mrsu.ru

Особое значение имеет медленная инфекция, характеризующаяся своеобразным взаимодействием вируса и макроорганизма с развитием патологического процесса, как правило, в одном органе или одной тканевой системе, несмотря на то что после многолетнего инкубационного периода появляются симптомы заболевания, заканчивающегося летально.

Желудок здорового человека колонизирован относительно небольшим количеством микроорганизмов. Однако при определенных условиях состав нормальной микрофлоры изменяется, что способствует развитию гастродуоденальной патологии, при которой в слизистой оболочке с наибольшей частотой обнаруживаются ВЭБ, ЦМВ [4, 10].

Микстинфекция *Helicobacter pylori* и представителями семейства *Herpesviridae* приводит к прогрессирующей деструкции слизистой оболочки желудка (СОЖ), создавая благоприятные условия для длительной персистенции и других патогенных микроорганизмов. Чем глубже степень повреждения слизистой оболочки, тем чаще и в более разнообразном сочетании определяются указанные микроорганизмы [10, 15]. Известны случаи острого гастрита, ассоциированного с ВЭБ-инфекцией с диффузной атипичной лимфоидной гиперплазией СОЖ, лихорадкой, диареей, спленомегалией, лимфаденопатией. У больных иммуногистохимически выявлялись CD20<sup>+</sup>-лимфоциты, ВЭБ-положительные при гибридизации *in situ* [2, 11]. По данным Г. В. Вольтца [2], у пациентов, имеющих ДНК ВЭБ в СОЖ, в 88,6% случаев диагностируется аутоиммунный гастрит, при этом часто наблюдается синдром хронической неспецифической интоксикации. Имеются данные о выявлении антител к антигенам ВПГ-1, ВЭБ в сыворотке больных язвенной болезнью и раком желудка, но достоверно не установлены их диагностические титры. Считается, что по способности приводить к развитию опухолевого процесса ВЭБ относится к инфекционным агентам, дающим прямой канцерогенный эффект [8, 13]. Поэтому изучение ульцерогенного и онкогенного потенциала герпесвирусов, выявление клинико-морфологических особенностей и поиск маркеров, имеющих диагностическую и прогностическую значимость при патологии желудочно-кишечного тракта, представляют огромный интерес.

### Материалы и методы

Было обследовано 150 больных с гастропатологией, находившихся на стационарном лечении в Мордовской республиканской клинической больнице и Мордовском республиканском онкологическом диспансере. Обследование всех больных проводили при получении информированного согласия. Диагноз заболевания желудка ставили на основании жалоб, данных анамнеза, результатов клинико-лабораторных и функциональных исследований. В зависимости от нозологической формы заболевания пациенты были разделены на группы: 1-я группа — больные хроническим гастритом в стадии обострения ( $n = 60$ ), 34 из них — больные атрофическим гастритом; 2-я группа — больные язвенной болезнью желудка в стадии обострения ( $n = 60$ ); 3-я группа — больные раком желудка II—IV стадии ( $n = 30$ ). В контрольную группу вошло 30 практически здоровых жителей Саранска, не имеющих на момент обследования клинических и анамнестических признаков гастро- и иммунопатологии.

Кровь на обследование забиралась в утренние часы натощак из локтевой вены в объеме 5 мл в пробирку без консервантов. Время коагуляции в пробирке не превышало 30 мин при комнатной температуре (20—25°C). Сыворотку выделяли центрифугированием в течение 10 мин и помещали в отдельные пробирки. Образцы немедленно замораживали и хранили (не более 2 мес) при температуре не выше -20 °C до комплектации, необходимой для заполнения микропланшета диагностической тест-системой для иммуноферментного анализа. После оттаивания опытный образец перемешивали. Образцы сывороток, содержащих осадок, дополнительно следует центрифугировать в течение 10 мин при комнатной температуре.

Выбор сыворотки крови в качестве исследуемого материала объясняется малоинвазивностью и легкостью получения, отсутствием противопоказаний, положительной корреляцией со значениями соответствующих показателей, исследуемых в других биологических жидкостях, желудочных биоптатах.

Методом твердофазного иммуноферментного анализа в сыворотке крови исследуемых качественно и количественно определяли маркеры герпесвирусных инфекций: IgG к антигенам вируса простого герпеса 1-го и 2-го типа, к антигенам ЦМВ, к раннему (ЕА) и капсидному (VCA) антигенам ВЭБ. Выбор диагностических тест-систем патогенетически обоснован. Для более точного подразделения больных на группы и выделения контрольной группы определяли иммуноферментным методом сывороточные концентрации пепсиногена-1, пепсиногена-2, гастрина-17.

Исследование проводили с использованием наборов реагентов фирм-производителей “Вектор-Бест” (Новосибирск) и “ВЮНИТ” (Хельсинки, Финляндия), следуя приложенным инструкциям. В лунки микропланшета с иммобилизованными специфическими антителами к исследуемому показателю вносили образец сыворотки и конъюгат антител, меченных пероксидазой хрена, что обеспечивает контроль и усиление реакции, инкубировали, после чего лунки микропланшета промывали, добавляли хромоген-субстратную смесь и в очередной раз микропланшет инкубировали. Вносили раствор стоп-реагента, что приводило к окрашиванию содержимого лунки. Концентрацию показателя в исследуемом образце, прямо пропорциональную интенсивности окрашивания, измеряли на спектрофотометре при длине волны 450 нм. По результатам оптической плотности строили график, основанный на полученных показателях калибровочных образцов. Концентрации показателя в исследуемых образцах считались достоверными, если вычисленное по графику значение контрольного образца попадало в пределы значений, указанных на этикетке соответствующего флакона.

Серологические маркеры герпесвирусных инфекций у больных с предраковыми состояниями и раком желудка определяли в рамках инновационного проекта по гранту (договор № 18-11 от 11.04.2011) при финансовой поддержке Союза инновационно-технологических центров России.

### Результаты

В группе больных хроническим гастритом повышенные титры иммуноглобулина G (IgG) к антигенам вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типа были обнаружены у всех больных. Титры антител 1:200 у 8,3%

обследованных больных хроническим гастритом свидетельствовали о фазе ремиссии, а титры антител 1:400 у 91,7% пациентов указывали на угрозу активации герпетической инфекции [9]. Антитела класса IgG к ЦМВ определились у 71,7% больных данной группы. Антитела к ВЭБ у 20% больных не были выявлены. Сочетание повышенных титров IgG к раннему и капсидному антигенам ВЭБ было обнаружено у 26,7% больных хроническим гастритом, что скорее всего указывало на реактивацию ВЭБ-инфекции. Повышенные титры IgG к VCA при отсутствии IgG к EA, определенные у 53,3% пациентов, свидетельствовали о поздней инфекции [7]. Необходимо отметить, что у больных атрофическим гастритом четко прослеживалась связь с наличием IgG к VCA (у всех больных), IgG к антигенам ВПГ (титр антител 1:400 определялся у 100% больных атрофическим гастритом), IgG к антигенам ЦМВ (у 80% больных). Это можно объяснить способностью герпесвирусов к размножению в эпителиальных клетках и цитолитическому действию на клетку-мишень.

В группе больных язвенной болезнью желудка повышенные титры IgG к антигенам вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типа были обнаружены у всех обследованных: у 18,3% больных в титре 1:200, у 81,7% в титре 1:400. Антитела класса IgG к ЦМВ определились у 91,7% больных язвенной болезнью желудка, 35% больных были серонегативны по отношению к антигенам ВЭБ. Сочетание повышенных титров IgG к раннему и капсидному антигенам ВЭБ обнаружено у 16,7% пациентов данной группы. Повышенные титры IgG к VCA при отсутствии IgG к EA определились у 48,3% больных язвенной болезнью желудка.

В группе больных раком желудка повышенные титры IgG к антигенам вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типа (1:400) были обнаружены у всех обследованных, что указывало на угрозу активации герпетической инфекции. Антитела класса IgG к ЦМВ также определились у всех пациентов данной группы. У 13,3% больных антитела к ВЭБ не были выявлены. Сочетание повышенных титров IgG к раннему и капсидному антигенам ВЭБ обнаружилось у 20% больных раком желудка, что расценивалось как реактивация ВЭБ-инфекции. Повышенные титры IgG к VCA при отсутствии IgG к EA определялись у 66,7% пациентов. В проведенных ранее исследованиях [12] в 70% случаев была выявлена корреляция антителообразования к белкам ВЭБ с присутствием ДНК вируса в опухолевых клетках больных раком желудка.

В контрольной группе повышенный уровень IgG к антигенам вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типа определялся у 100% обследованных: в титре 1:200 — у 90%, в титре 1:400 — у 10%, при этом у последних в анамнезе имелись указания на частые рецидивы herpes labialis. Антитела класса IgG к антигенам ЦМВ присутствовали у 36,7% обследованных; 40% лиц из контрольной группы оказались ВЭБ-серопозитивными: у 10% определились IgG к VCA и EA, у 6,7% — только к EA, у 23,3% — только к VCA.

## Обсуждение

У обследованных больных были выявлены серологические маркеры смешанной герпесвирусной инфекции в достаточно высоких титрах, позволяющих говорить о наличии у них хронической герпесвирусной (у 100% больных), цитомегаловирусной (в 71,7, 91,7, 100% случаев у больных хроническим гастритом, язвенной болезнью, раком желудка соответственно) и ВЭБ-инфекции (в 80, 65, 86,7 случая у больных хроническим гастритом, язвенной болезнью, раком желудка соответственно).

Полученные результаты свидетельствуют о возможной триггерной роли герпесвирусов в ulcerо- и канцерогенезе, позволяют рекомендовать определение IgG к антигенам герпесвирусов у больных с гастропатологией и добавление соответствующих противовирусных препаратов к базисной терапии заболеваний желудка.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Баринский И. Ф. Герпесвирусные инфекции — иммунодефицитные заболевания. Аллергология и иммунология. 2004; 5 (1): 202—204.
2. Вольнец Г. В. Клинические и диагностические особенности и принципы терапии аутоиммунного гастрита у детей. Детская гастроэнтерология. 2005; 3: 33—37.
3. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2004 г. Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. 2006; 17 (3, прил. 1): 45—49.
4. Дудаева Н. Г., Гречушников В. Б., Бугаева И. О. и др. Иммунологические и морфологические аспекты диагностики инфекции Helicobacter pylori и вирусов семейства Herpesviridae. Саратовский научно-медицинский журнал. 2010; 6 (2): 361—364.
5. Залуцкий И. В., Машевский А. А., Аверкин Ю. И. Тенденции динамики заболеваемости злокачественными новообразованиями в Республике Беларусь и пути управления онкологической ситуацией. Медицина. 2009; 1 (64): 8—11.
6. Зуев В. А. Медленные вирусные инфекции. М.: Изд-во РГМУ; 1988. 158 с.
7. Исаков В. А., Рыбалкин С. Б., Романцов М. Г. Герпесвирусная инфекция: рекомендации для врачей. СПб.; 2006. 96 с.
8. Киселев Ф. Л. Инфекции и рак. Практическая онкология. 2011; 12 (2): 62—64.
9. Львова И. И., Корюкина И. П., Фельдблюм И. В., Головина Т. Н. Способ оценки активности хронической рецидивирующей герпетической инфекции: описание изобретения к патенту. Заявка на изобретение №2003110354/15, 10.04.2003.
10. Нелюбин В. Н. Иммунопатогенетические особенности развития хронического воспаления у больных с гастроудоденальной патологией, обусловленной Helicobacter pylori и вирусами герпеса: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2011. 41 с.
11. Симованьян Э. Н., Денисенко В. Б., Сарычев А. М., Григорян А. В. Хроническая инфекция вируса Эпштейна—Барр у детей: современные аспекты диагностики и лечения. Consilium medicum. 2006; 8 (2): 37—44.
12. Уразова Л. Н., Кузнецова Т. Н., Севостьянова Н. В. и др. Маркеры онкогенных вирусов в ранней диагностике злокачественных опухолей. Сибирский онкологический журнал. 2004; 2—3: 111—117.
13. Харченко Е. П. Канцерогенез: иммунная система и иммунотерапия. Иммунология. 2011; 1: 50—56.
14. Хитрик Н. М. Функциональная активность фагоцитов у больных с инфекцией, вызванной вирусом простого герпеса: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2007. 18 с.
15. Чернявский В. И., Бирюкова С. В., Мартынов А. В. и др. Helicobacter pylori — Herpesviridae ассоциации в этиопатогенезе неопластических поражений желудка. Современные аспекты изучения. Анналы Мечниковского института. 2005; 1: 48—62.
16. [http://www.mednet.ru/images/stories/files/statistika/zabolevaemost\\_vsego\\_naseleniya/2010/Zabolevaemost2010\\_chast1.pdf](http://www.mednet.ru/images/stories/files/statistika/zabolevaemost_vsego_naseleniya/2010/Zabolevaemost2010_chast1.pdf).

Поступила 23.03.12