

МОРФОИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ ГАСТРИТА, АССОЦИИРОВАННОГО С *HELICOBACTER PYLORI*

Канарейцева Т.Д.¹, Чернуцкая С.П.², Гервасиева В.Б.², Сухарева Г.В.³

¹ Московская медицинская академия имени И. М. Сеченова

² Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова РАМН, Москва

³ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии, Москва

Чернуцкая Светлана Петровна
103064, Москва, Малый Казарменный переулок, д. 5а
Тел./факс: 917-20-26, 8-985-274-81-51

РЕЗЮМЕ

У 24 больных с хроническим гастритом был проанализирован 31 биоптат антрального отдела и тела желудка для выявления *H. pylori* и дальнейшего изучения морфоиммунологических связей. Наличие в биоптатах *H. pylori*, активность гастрита (лейкоцитарная инфильтрация), степень выраженности гастрита, а также наличие эозинофилов и IgE-содержащих плазмочитов коррелировали с титром антител к *H. pylori*. Практически у всех больных обнаружение сывороточных антител к *H. pylori* коррелировало с положительным дыхательным уреазным тестом. Учитывая относительно высокую чувствительность и специфичность иммуноферментного определения АТ к *H. pylori* в сыворотке крови больных, этот метод наряду с дыхательным уреазным тестом может быть использован при первичном скрининге хеликобактерной инфекции. Однако «золотым стандартом» диагностики хеликобактерных гастритов по своей информативности и диагностической значимости остается морфологическое исследование биоптатов.

SUMMARY

31 biotates in the antral mucosa of 24 patients with a chronic gastritis and a body of a stomach for revealing *H. pylori* were being analysed and for the further studying morfo-immunology communications. The presence of *H. pylori* in biotates, gastritis's activity (leukocytic infiltration), gastritis's degree evidence, also eosinophilus's presence and IgE containing plasmocytus had correlated with antibodies titre to *H. pylori*. After inspection, at the majority of patients serum antibodies to *H. pylori* correlated with positive respiratory-test. Considering that high sensitivity and specificity of immune-enzyme detection of antibodies to *H. pylori* in theirs blood serum, this method side by side with respiratory-test can be used at the primary screening *H. pylori* infections. The Biotates morphological examination is the «golden standart» of *H. pylori* gastritis's diagnostic by it's informatively and diagnostic's importance.

ВВЕДЕНИЕ

Грамотрицательная бактерия *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) широко распространена в мире и присутствует почти в 50% человеческой популяции. В России эти цифры значительно выше и достигают от 80 до 100% носительства [1]. Вызванное *H. pylori* воспаление слизистой оболочки желудка (СОЖ) не дает выраженных симптомов у большинства инфицированных лиц, но оно ассоциируется с увеличенным риском развития язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки (ДПК), аденокарциномы и лимфомы желудка [2; 3].

Системный и местный воспалительный ответ на *H. pylori* зависит от функционального состояния иммунной системы человека. Практически у всех инфицированных *H. pylori* развивается гуморальный иммунный ответ и при хроническом течении инфекции IgG- и IgA-антитела действуют уже против множества различных антигенов бактерии. Наиболее близок к IgA IgE, поскольку также является секреторным иммуноглобулином и образуется преимущественно в слизистых оболочках, выполняя



защитные функции в системе иммунитета наряду с секреторными IgA. При дефиците IgA компенсаторно увеличивается содержание IgE [4].

При хроническом гастрите были обнаружены IgE-специфические антитела к антигенам *H. pylori* в сыворотке крови больных и в 92% случаев найдены IgE-АТ в интестинальной жидкости [5; 6]. В биопсиях антрального отдела желудка у больных с обострением хронического гастрита выявили повышенное число IgE-содержащих клеток, что может играть определенную роль в развитии заболеваний желудка и ДПК [7; 8].

Хеликобактерный гастрит характеризуется инфильтрацией мононуклеаров и нейтрофилов в СОЖ. В биоптатах людей с персистированием *H. pylori* в сравнении с неинфицированными в собственной пластинке СОЖ определяется повышенное содержание различных типов лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов, макрофагов, тучных и дендритных клеток [9–11].

С диагностической точки зрения особый интерес представляет выяснение взаимосвязи между иммунным ответом на хеликобактерную инфекцию у больных хроническим гастритом и морфологическими изменениями в СОЖ. С этой целью было проведено исследование по определению ряда критериев морфоиммунологических связей при хроническом гастрите, ассоциированном с *H. pylori*, у больных, в том числе с аллергическими заболеваниями в анамнезе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В обследование были включены 24 больных хроническим гастритом, ассоциированным с *H. pylori*-инфекцией (9 мужчин и 15 женщин), средний возраст составил $44,02 \pm 2,2$ года. Группу сравнения составили 15 здоровых лиц, не предъявляющих жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Достоверность хронического гастрита подтверждали проводимым алгоритмом исследования с детализацией жалоб и времени их появления, проведением эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) с биопсией слизистой оболочки из антрального отдела и тела желудка, морфологическим исследованием биоптатов слизистой. Характер изменений СОЖ оценивали в соответствии с положениями Сиднейской классификации в Хьюстонской модификации [13]. Изучение состояния СОЖ включало исследование гистологических препаратов с окраской гематоксилином и эозином, диагностику *H. pylori* с использованием окраски по Романовскому — Гимзе.

IgE-содержащие клетки в СОЖ определяли иммуногистохимическим пероксидазным методом согласно инструкции по применению набора реагентов для иммуногистохимического окрашивания парафиновых срезов тканей, где IgE в плазматических клетках проявляли моноклональными мышиными анти-IgE-антителами. Продукт реакции оценивали

по ярко-коричневому окрашиванию гранул в цитоплазме клеток.

Наличие инфекции *H. pylori* устанавливали по результатам дыхательного теста с компьютерной версией, быстрого уреазного теста и гистологическими методами исследования. В сыворотке крови больных методами ИФА определяли показатели специфического гуморального ответа к *H. pylori* (сумм-АТ, IgG-АТ, IgA-АТ) в наборах фирмы «Эколаб», «ВекторБест» (Россия) и в модифицированном нами иммуноферментном методе определения хеликобактерных IgE-АТ [12].

В сыворотке крови пациентов методом ИФА определяли уровень общего IgE в наборах «ИгЕ-ИФА» (фирма ООО ЦКФФ, Ставрополь).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все обследованные больные (24 человека) предъявляли жалобы на боль в эпигастрии (88,7%), тошноту (79,2%), изжогу (71,7%), реже — чувство тяжести в эпигастрии (29,1%). В то же время при гастроскопии во всех наблюдениях имели место изменения СОЖ: в 18 случаях (75%) встречался умеренно выраженный гастрит, у одного больного — выраженный атрофический гастрит и у 5 (20,8%) больных эндоскопически определялся эрозивный гастрит.

По результатам дыхательного теста с компьютерной версией *H. pylori* определялся у 15 из 20 (75%) исследуемых больных, а быстрый уреазный тест, поставленный у 7 (29%) из 24 обследованных больных, оказался положительным у всех.

Гистологическими методами исследования проанализирован 31 биоптат антрального отдела и тела желудка у 24 больных, из них у 5 (20,8%) в анамнезе имелись аллергические заболевания: хроническая рецидивирующая крапивница (ХРК-1), пищевая аллергия (ПА-1), поллиноз (П-3).

Морфологическое исследование биопсийного материала позволило детализировать изменения в СОЖ (см. табл.).

У всех пациентов обнаружены гастриты различной степени выраженности. В антральном отделе изменения были более выраженными, чем в теле желудка, и носили в основном атрофический характер. В теле желудка наряду с атрофическими формами встречались неатрофические формы гастритов.

При умеренно выраженном атрофическом гастрите (Гз) у 12 (50%) больных в антральном отделе желудка выявлены фовеолярная гиперплазия и немногочисленные пилорические железы, часто кистозно измененные, а также умеренная инфильтрация лимфоцитами и плазмócитами собственной пластинки СОЖ. Степень выраженности кишечной метаплазии была незначительной и ограничивалась единичными железами, также наблюдались очаговые разрастания фиброзной ткани. В теле желудка



у этих больных в покровно-ямочном эпителии наблюдалась незначительная гиперплазия, единичные железы в фундальном отделе желудка были кистозно изменены. Собственная пластинка слизистой тела желудка была незначительно инфильтрирована лимфоцитами и плазматическими клетками.

У 8 (33,3%) больных определялся выраженный атрофический гастрит (Г4) антрального отдела, при котором в СОЖ встречались лишь отдельные разрозненные пилорические железы с образованиями в них кист, резко выраженная лимфоплазматическая инфильтрация, диффузное и очаговое разрастание фиброзной ткани. В данной группе больных определялась умеренная фовеолярная гиперплазия фундального отдела желудка, отмечалась пилоризация единичных фундальных желез.

При изучении активности гастрита было выявлено, что у 20 (83,3%) пациентов была активная форма антрального гастрита, проявившаяся наличием сегментоядерных нейтрофилов как межэпителиально (в собственной пластинке слизистой), так и интраэпителиально (в железах покровно-ямочного эпителия), у остальных 4 (16,7%) нейтрофильной инфильтрации не наблюдалось. Подобные изменения отмечались в теле желудка. У 9 (45%) пациентов из 20 больных с активной формой гастрита в собственной пластинке слизистой оболочки выявлены лимфоидные фолликулы, что наряду с активностью гастрита косвенно свидетельствует о хеликобактерной природе гастрита; из них в 5 (25%) случаях в собственной пластинке слизистой оболочки обнаружены значительные скопления эозинофилов. У остальных больных в СОЖ отмечены единичные эозинофилы.

При прицельном изучении состояния микроциркуляции 24 больных у 5 (20,8%) определялась выраженная дилатация микрососудов с наличием в их просвете агрегатов эритроцитов. У этих же больных отмечался выраженный периваскулярный отек, обусловленный повышенной проницаемостью сосудов. У 3 (12,5%) была отмечена выраженная дилатация капилляров и артериол, что свидетельствует о вовлечении в воспалительный процесс мелких сосудов, проявляющийся ангиоэктазией и отеком стромы.

При морфологическом выявлении *H. pylori* бактерии были обнаружены у большинства исследуемых больных (17 человек — 70,83%), у 7 (29%) *H. pylori* при гистологическом исследовании не была обнаружена. Наиболее ярко динамика персистенции *H. pylori* прослеживалась в антральном отделе желудка, при этом у 6 (35%) больных отмечалась III степень обсеменения, в 11 (65%) случаях — II степень.

Как правило, бактериальное обсеменение сопровождалось поражением в большей степени антрального отдела желудка. Так, у 12 (50%) больных отмечался умеренно выраженный гастрит антрального отдела (Г3), а у 8 (33,3%) больных был обнаружен выраженный атрофический гастрит антрального отдела (Г4). Подобные изменения в СОЖ у больных

хеликобактерным гастритом отмечали и другие исследователи [9].

Особо следует отметить тот факт, что у 5 (20,83%) больных было выявлено большое скопление эозинофилов в собственной пластинке слизистой, причем эти клетки наблюдались только у *H. pylori*-позитивных больных с высокой степенью обсеменения СОЖ бактериями. При этом мы, как и другие авторы [14], не выявили преимущественной связи эозинофильной инфильтрации в слизистой у больных с наличием аллергических заболеваний в анамнезе. По-видимому, обнаружение единичных эозинофилов или скопление их в собственной пластинке слизистой характерны именно для персистенции *H. pylori* в СОЖ.

У всех 24 больных в сыворотках крови исследовали антитела к *H. pylori*, при этом АТ были выявлены у 22-х больных (91,6%). У 2 больных с умеренно выраженным гастритом отсутствие антител характеризовалось отрицательным уреазным тестом и отсутствием *H. pylori* в СОЖ.

Учитывая относительно высокую чувствительность и специфичность иммуноферментного определения АТ к *H. pylori* в сыворотке крови больных, этот метод наряду с дыхательным уреазным тестом может быть использован при первичном скрининге хеликобактерной инфекции в диагностических центрах [2; 3; 14; 15].

IgE-АТ к *H. pylori* были обнаружены в сыворотках 6 человек, при этом они не ассоциировались ни с повышенным уровнем общего IgE, ни с аллергическим анамнезом больных.

В связи с тем что у больных с хеликобактерной инфекцией нам удалось определить IgE-АТ к *H. pylori*, представляло интерес выявить IgE-содержащие клетки в СОЖ с помощью иммуногистохимического метода. Нами была обнаружена IgE-позитивная реакция в виде коричневых гранул в цитоплазме плазмоцитов от единичных клеток до скопления таковых в собственной пластинке слизистой у 6 больных (рис. 1 см. на цветной вклейке).

В отдельных случаях (38,3%) можно было наблюдать скопление IgE-содержащих плазмоцитов в СОЖ (рис. 2 см. на цветной вклейке).

Ранее было показано, что в биоптатах слизистой антрального отдела желудка у больных хроническим гастритом определяли увеличенное число IgE-содержащих плазматических клеток по сравнению с группой контроля, где IgE-содержащие клетки не находили или они были в незначительном количестве [7]. Подобное исследование проводилось также у больных с аллергией и наличием хронического гастрита, ассоциированного *H. pylori*-инфекцией [8]. Однако статистически достоверных различий в степени инфильтрации слизистой IgE-содержащими клетками у больных с аллергией и без нее не было найдено. Вместе с тем ряд авторов выявили корреляционную зависимость между уровнем общего IgE в сыворотке крови и количеством IgE-содержащих клеток в СОЖ инфицированных *H. pylori* больных

с аллергией в анамнезе [15]. По результатам наших исследований, число IgE-содержащих плазматических клеток в СОЖ у больных хроническим хеликобактерным гастритом существенно не отличалось, независимо от наличия или отсутствия аллергии, и не было связано с уровнем общего IgE в сыворотке крови.

Из 24 больных у 9 (37,5%) обнаружено повышенное содержание общего IgE (М = 190 кЕ/л), среди

которых у 5 в анамнезе установлены аллергические заболевания; при этом выявленные у 6 (25%) больных IgE-АТ к *H. pylori* только в 3 (50%) случаях ассоциировались с повышенным уровнем общего IgE и аллергоанамнезом. Следует отметить, что при эндоскопическом исследовании у всех 6 больных с выявленными IgE-АТ были обнаружены эрозивные гастриты (см. таблицу).

ДАННЫЕ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ
У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ГАСТРИТАМИ

№ больных	Гастрит антрального отд. желудка	Гастрит тела желудка	Аллергоанамнез	Данные быстрого уреазного теста (в крестах)	Дыхательный уреазный тест	Суммарные АТ- <i>Hp</i>	IgG-АТ- <i>Hp</i>	IgA-АТ- <i>Hp</i>	IgE-АТ- <i>Hp</i>	Общ IgE (кЕ/л), N > 100
						обратные титры			кЕ/л	
						N > 10	N > 100			
1	Г3	—	Отр.	<i>Hp</i> ⁺⁺	+	40	1800	1000	Отр.	85
2	Г3	—	Отр.	—	+	40	Отр.	Отр.	Отр.	85
3	—	Г3	ХРК	ЭрГ	+	Отр.	420	Отр.	0,8	140
4	Г3	—	П	<i>Hp</i> ⁺⁺	+	20	Отр.	120	1,61	220
5	—	Г3	Отр.	—	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	40
6	Г4	—	Отр.	<i>Hp</i> ⁺	+	Отр.	1000	110	Отр.	85
7	Г3	—	Отр.	—	+	40	320	110	Отр.	110
8	Г3	Г2	Отр.	<i>Hp</i> ⁺	+	Отр.	120	Отр.	Отр.	30
9	Г4	Г1	П	—	Отр.	10	Отр.	270	Отр.	740
10	Г2	—	Отр.	ЭрГ	+	160	1200	680	1,2	55
11	Г4	Г3	Отр.	<i>Hp</i> ⁺	++	20	120	200	Отр.	80
12	Г4	Г1	Отр.	ЭрГ	Отр.	Отр.	1800	Отр.	1,24	65
13	Г3	Г3	Отр.	—	—	80	420	230	Отр.	60
14	Г4	Г3	Отр.	—	Отр.	80	Отр.	680	Отр.	100
15	Г4	—	Отр.	<i>Hp</i> ⁺	—	40	500	220	Отр.	40
16	Г2	—	Отр.	—	—	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	55
17	Г3	—	Отр.	<i>Hp</i> ⁺	++	20	200	Отр.	Отр.	80
18	Г4	—	ПА	ЭрГ	+	10	220	120	1,17	430
19	Г3	—	Отр.	—	—	Отр.	Отр.	200	Отр.	100
20	Г3	Г3	Отр.	ЭрГ	+	40	1250	800	2,04	74
21	Г3	—	П	—	+	20	140	Отр.	Отр.	420
22	Г3	—	Отр.	—	+	Отр.	520	680	Отр.	190
23	Г4	—	Отр.	—	+	160	1000	330	Отр.	9
24	Г3	—	Отр.	—	—	20	Отр.	300	Отр.	80

Примечания:

Hp — *H. pylori*, ЭрГ — эрозивный гастрит.

Г1 — Г4 — степень выраженности гастрита.

Положительные результаты обнаружения *H. pylori* с помощью быстрого уреазного теста с компьютерной версией во всех 7 случаях совпадали с данными дыхательного уреазного теста.

IgG- и IgA-АТ к *H. pylori* определялись соответственно у 16 (66,6%) (*H. pylori*-ассоциированных и *H. pylori*-негативных больных) из 24 обследованных больных (см. табл.) [3; 14]. IgG-АТ к *H. pylori* чаще всего ассоциировали с положительными результатами дыхательного уреазного теста с компьютерной версией. У 15 (79%) больных с положительным дыхательным уреазным тестом исследование проводилось 19 человек, у 13 (86,6%) имелись IgG-АТ, у 10 (52,6%) больных — IgA-АТ к *H. pylori*, в 11 (58%) случаях выявлены суммарные АТ к *H. pylori*. Превалирования в частоте обнаружения тех или иных АТ к *H. pylori* не было, но имелись определенные закономерности между уровнем общего IgE и АТ к *H. pylori*. Так, титр антител (IgG и IgA-АТ, суммарные АТ к *H. pylori*) имел тенденцию к снижению при повышенном уровне общего IgE.

У больных гастритом с аллергическими заболеваниями в анамнезе у 4 из 5 дыхательный уреазный тест был положительным и во всех случаях совпадал с быстрым уреазным тестом. Именно у этих больных были выявлены IgE-АТ к *H. pylori*, тогда как у больных без аллергии эти антитела выявлялись в 15,8% случаев. Следует отметить, что IgE-АТ к *H. pylori*, выявленные нами у больных с эрозивным гастритом, определяли и другие авторы [7; 8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Шкутин В. А., Шпирна А. И., Старовойтов Г. Н. Роль *Helicobacter pylori* в патологии человека // Клин. микробиол. и антимикробная химиотер. — 2002. — Т. 2. — С. 128–145.
2. Исаков В. А., Домарадский И. В. Хеликобактериоз. — М.: Медпрактика, 2003. — С. 235–263.
3. Корсунский А. А., Щербаков П. Л., Исаков В. А. Хеликобактериоз и болезни органов пищеварения у детей. — М.: Медпрактика, 2002. — С. 105–124.
4. Small P., Barrett D., Frenkiel S. et al. Local specific IgE production in nasal polyps associated with negative skin tests and serum RAST // Ann. Allergy. — 1985. — Vol. 55. — P. 736–739.
5. Brown W. R., Borthistle B. K., Chen S. T. Immunoglobulin E (IgE) and IgE-containing cells in human gastrointestinal fluids and tissues // Clin. Exp. Immunol. — 1975. — Vol. 20, № 2. — P. 227–237.
6. Ducat H., Dumke K., Niedobitek F. Comparative studies of IgE content of the gastric mucosa in various forms of gastritis // J. Gastroenterol. — 1986. — Vol. 24, № 11. — P. 667–672.
7. Berczi L., Sebestyén A., Fekete B. et al. IgE-containing cells in gastric mucosa with and without *Helicobacter pylori* infection // Pathol. Res. Tract. — 2000. — Vol. 196, № 12. — P. 831–834.
8. Liutu M., Kalimo K., Kalimo H. et al. Mast cells and IgE-containing cells in gastric mucosa of *Helicobacter pylori* infected and non-infected patients with chronic urticaria // Eur. Acad. Dermatol. Venereol. — 2004. — Vol. 18, № 1. — P. 69–72.
9. Чамсутдинов Н. И. Морфофункциональная характеристика желудочно-кишечного тракта у больных бронхиальной астмой // Вестн. СПб. гос. медакадемии им. И. И. Мечникова. — 2004. — № 4. — С. 162–166.
10. De Paulis A., Prevete N., Fiorentino I. et al. Basophils infiltrate human gastric mucosa at sites of *Helicobacter pylori* infection, and exhibit chemotaxis in response to *Helicobacter pylori*-derived peptide *Helicobacter pylori* (2–20) // Immunol. — 2004. — Vol. 172, № 12. — P. 7734–7743.
11. Hofman V., Lassalle S., Selva E. et al. Involvement of mast cells in gastritis caused by *Helicobacter pylori* a potential role in epithelial cell apoptosis // Clin. Pathol. — 2007. — Vol. 60, № 6. — P. 600–607.
12. Чернуцкая С. П., Гервазиева В. Б., Сухарева Г. В. Роль *Helicobacter pylori* у больных с поражением желудка и двенадцатиперстной кишки в развитии аллергических заболеваний // Гастроэнтерология. — 2008. — № 4. — С. 17–20.
13. Аруин Л. И. Новая международная классификация гастрита // Арх. патол. — 1997. — № 3. — С. 3–7.
14. Ojetti V., Armuzzi A., De Luca A. et al. *Helicobacter pylori* infection affects eosinophilic cationic protein in the gastric juice of patients with idiopathic chronic urticaria // Int. Arch. Allergy Immunol. — 2001. — Vol. 125, № 1. — P. 66–72.
15. Embil J. M., Choudhri S. H., Smart G. Comparison of salivary and serum enzyme immunoassays for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection // Can. J. Infect. Dis. — 1998. — Vol. 9. — P. 277–280.

Наши исследования по определению ряда критериев морфоиммунологических связей при хроническом гастрите показали, что обнаружение *H. pylori* в биоптатах СОЖ с помощью морфологического обследования соответствовало выявлению *H. pylori* быстрым уреазным тестом с компьютерной версией и дыхательным уреазным тестом.

Обнаружение морфологическими и эндоскопическими методами хеликобактерной инфекции подтверждалось во всех случаях гуморальным иммунным ответом на антигены *H. pylori*. Наличие в биоптатах *H. pylori*, активность гастрита (лейкоцитарная инфильтрация), степень выраженности гастрита, а также наличие эозинофилов и IgE-содержащих плазмочитов коррелировали с титром антител к *H. pylori*. Таким образом, с учетом анализа полученных нами результатов можно сделать заключение, что для *H. pylori*-ассоциированных гастритов характерны определенные морфологические изменения в СОЖ. Важно отметить, что морфологическое выявление хеликобактерной инфекции во всех случаях подтверждалось обнаружением АТ к *H. pylori*. Однако у некоторых больных с неподтвержденной морфологически *H. pylori*-инфекцией определялись отдельные антитела к *H. pylori*, что может свидетельствовать либо о локализации бактерии в атипичном месте, либо об эрадикации хеликобактериоза.

Однако «золотым стандартом» диагностики хеликобактерных гастритов по своей информативности и диагностической значимости остается морфологическое исследование биоптатов.