

HELICOBACTER PYLORI-АССОЦИИРОВАННАЯ ЯЗВЕННАЯ БОЛЕЗНЬ ЖЕЛУДКА: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И КЛИНИКО- ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ БЕЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНТИБИОТИКОВ

Смирнова Т.А., Боровиков О.В.* , Пономарева Е.П.* ,
Ханферян Р.А.*

Гастроэнтерологический центр СКАЛ, Краснодар, Россия;

*Кубанская государственная медицинская академия Краснодар, Россия

Резюме. Большинство сведений об интимных механизмах пожизненной персистенции *Helicobacter pylori* (HP) в слизистой оболочке желудка и резистентности к данной инфекции базируются только на феноменологических данных, например на отсутствии заболевания или низкой колонизации мышей и людей, спонтанно синтезирующих высокие концентрации IL-2. 108 пациентов, страдающих HP-ассоциированной ЯБЖ, были разделены на две группы. Пациенты I группы получали стандартную терапию, включающую два антибиотика, ингибиторы протонной помпы и H₂-блокаторы. Больных II группы лечили аналогично, но вместо антибиотиков они получали 0,1 мг rIL-2 – Ронколейкина, растворенного в 2 мл 0,9% NaCl через гастроскоп в 4-6 точек субмукозно параульцерально и одновременно 0,4 мг в/в согласно инструкции. Процедуру повторяли трижды с интервалом 72 часа. Результатом иммунотерапии явилось повышение концентрации CD25⁺, HLA-DR⁺ CD16⁺CD56⁺ лимфоцитов в крови, сывороточной концентрации IL-1α в 3 раза, IL-6 – в 4 раза и IFNγ – более чем в 20 раз при стимуляции бактерицидной активности нейтрофильных гранулоцитов. Эрадикация HP была достигнута у 95,4% пациентов против 81,5% в контроле, период заживления язвы составил 10,79±0,46 дней, а в группе, получавшей традиционную терапию – 35,23±1,58 дней.

Ключевые слова: хеликобактер, язва желудка, без антибиотиков, IL-2.

Smirnova T.A., Borovikov O.V., Ponomarjova E.P., Khanferjan R.A.

HELICOBACTER PYLORI-ASSOCIATED GASTRIC ULCER DISEASE: CLINICO-IMMUNOLOGICAL EFFECTIVENESS OF TREATMENT WITHOUT ANTIBIOTICS

Abstract. Most data of *Helicobacter pylori* (HP) lifelong persistence in gastric mucosa and the intimate mechanisms of resistance to this infection are based only on phenomenological findings, such as absence or low HP colonization in mice and men spontaneously producing high levels of IL-2. 108 patients suffering from HP-associated gastric ulcer disease were randomly divided into two groups. The I group of patients was cured with standard three or four component methods of therapy included of two antibiotics (usually Klaritromycin and Amoxicillin), proton pump inhibitors and H₂ receptor antagonists. Patients of the second group were treated with the same therapy, but instead of antibiotics they received 0,1 mg rIL-2 – Roncoleukin dissolved in 2 ml 0,9% NaCl into four – six points around gastric ulcer submucosally using gastroscope techniques and 0,4 mg was dissolved in 400 ml 0,9% NaCl with 4 ml

Адрес для переписки:

профессору Ханферяну Р.Ф. или
доценту Боровикову О.В.
350000 г. Краснодар, ул. Седина №4, Кубанская
мед. академия, кафедра клинической иммунологии,
аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и
ППС, Тел./факс: (8612) 68-49-56,
E-mail: khanfer@mail.kubtelecom.ru

10% human albumin and infused intravenously. This procedure was performed three times with the interval of 72 hours. Immunotherapy results in increase of CD25⁺, HLA-DR⁺ and CD16⁺CD56⁺ cells levels and the increase of the serum concentrations of IL-16 (3 folds), IL-6 (4 folds) and IFN γ (more than 20 folds). One month after the end of treatment it was found that in the group treated with rIL-2 the HP eradication achieved in 95,4% in comparison to 81,5% in control patients. In Roncoleukin treated group ulcer epithelization period was 10,79 \pm 0,46 days and in traditionally treated group – 35,23 \pm 1,58 days. (*Med. Immunol.*, 2005, vol.7, № 4, pp 397-404).

По данным мировой статистики язвенная болезнь желудка (ЯБЖ) продолжает оставаться распространенным заболеванием, достигая по данным ВОЗ 7-10% в популяции. За последние 15 лет принципы понимания патогенеза ЯБЖ и подходы к ее лечению кардинально изменились. Основой для этих перемен стало открытие вероятной этиологической и патогенетической роли *Helicobacter pylori* (НР) в развитии хронического гастрита, ЯБЖ и двенадцатиперстной кишки (ДПК), мальтомы и рака желудка [2, 14]. По данным Imanishi J. с соавторами [11], в местах НР-индуцированного поражения слизистой желудка постоянно встречается инфильтрация полиморфноядерными лейкоцитами. Авторы полагают, что хемокины, в частности IL-8, постоянно обнаруживаемый в очагах воспаления, индуцируют воспаление слизистой оболочки желудка (СОЖ) и образование гастродуоденальных язв. Причем Cag⁺ линии НР индуцируют экспрессию IL-8-промотора не только у лимфоцитов и макрофагов, но и у эпителиальных клеток СОЖ [18]. Данный хемокин является классическим хемоаттрактантом для нейтрофильных лейкоцитов, но развивающаяся при этом инфильтрация макрофагами не способствует эрадикации даже спиралевидных форм НР, так как фагоцитоз при этом является незавершенным [8].

Поэтому основой современных стандартных схем лечения НР-ассоциированной ЯБЖ и ДПК является антибактериальная эрадикационная терапия. Существующие схемы лечения ЯБЖ первой и второй линии, будь то тройная или квадротерапия, предусматривают использование в различных комбинациях двух антибактериальных препаратов в сочетании с мощными антисекреторными средствами: ингибиторами протонной помпы, H₂-блокаторами и/или де-нолом [6]. Эффективность эрадикации НР при данном варианте лечения составляет всего лишь 75 - 80% [2].

Количество лиц, инфицированных НР, во всем мире по разным данным колеблется от 1 до 1,5 миллиарда человек, в то же время всего лишь 10-15% из них имеют какие бы то ни было НР-ассоциированные заболевания [12]. В популяции людей, резистентной к заражению НР (африканцы жители Суэзо) в слизистой желудка чрезвычайно высок синтез IL-2 при низком синтезе IL-10 и IL-4. У низкорезистентных людей (австралийцы) ситуация оппозитная [15]. Ihan A. с соавторами [10] показали значительное усиление экспрессии CD25 и продукции лимфокинов в инфильтрирующей слизистой желудка Т-

лимфоцитах резистентных индивидуумов. Протективное действие IL-2 отмечено и в исследованиях при лечении пациентов с быстрым развитием язвенных поражений на фоне терапии рекомбинантным IL-4 и индометацином [17]. Системное применение IL-2 на фоне подобной терапии стабилизирует целостность и повышает репаративные возможности слизистой оболочки желудка и ДПК [17].

Таким образом, можно предположить, что в условиях инфицирования НР развитие гастритов, ЯБЖ и ДПК, а также мальтом, раковых заболеваний обусловлено генетическими факторами, а также, возможно, вторичными системными и местными дисфункциональными нарушениями иммунной системы и, прежде всего, недостаточным, неадекватным синтезом IL-2 в условиях специфического инфекционного воспаления [19]. В литературе имеются единичные сведения об успешном местном применении цитокинов, в том числе рекомбинантного IL-2, в частности Ронколейкина в комплексной терапии ЯБЖ и ДПК [1, 3]. Однако даже в этих работах слабо обозначена связь между развитием хронического язвенного процесса и инфицированием НР, динамикой инфекционного процесса в периоде мониторинга, недостаточно освещены непосредственные и отсроченные иммунные реакции после использования иммуностропного препарата в качестве основного терапевтического агента. Более того, все исследователи одновременно с иммунотерапией применяли современные антибактериальные препараты.

Цель исследования. Определить клинико-иммунологическую и микробиологическую эффективность лечения ЯБЖ, ассоциированной с НР в условиях введения в комплексную терапию системного и местного (параульцерального) применения рекомбинантного IL-2 – Ронколейкина при исключении антибиотиков, а также изучить отдаленные результаты современного традиционного и предлагаемого методов терапии.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 108 больных, страдающих ЯБЖ, ассоциированной с НР (77 мужчин и 31 женщина) в возрасте от 20 до 55 лет (средний возраст 45,3 лет). С учетом проводимой терапии все обследованные методом случайной выборки были разделены на 2 группы: I группа – основная – 43 человека (32 мужчины и 11 женщин) на фоне лечения ингибиторами протонной помпы (Омепразол или

Лосек в дозе 20 мг 2 раза в сутки в течение 3 недель) получали Ронколейкин. Больным II группы - 65 человек (45 мужчин и 20 женщин) проводилось стандартное противоязвенное лечение согласно рекомендациям ВОЗ: аналогичный курс препаратов-ингибиторов протонной помпы в сочетании с семидневной антибактериальной терапией (кларитромицин с амоксициллином/ метронидазолом). Референтную, III группу составили 30 здоровых добровольцев из числа студентов и интернов Кубанской государственной медицинской академии и сотрудников гастроэнтерологического отделения (22 мужчины и 8 женщин) в возрасте от 20 до 55 лет. Больные обеих групп и добровольцы подвергались идентичному комплексному клинико-инструментальному обследованию в динамике. Проводилась фиброгастродуоденоскопия с биопсией СОЖ для морфологического исследования, изучалась желудочная секреция методом рН-метрии. Наличие микробного обсеменения НР в соответствии со стандартным протоколом определяли при помощи быстрого уреазного теста, микробиологически и гистологически. Иммунологические исследования проводились до начала лечения, на 10-е сутки терапии, т.е. на 3-и сутки после последнего введения ронколейкина, а также через 1 и 12 месяцев мониторинга. Исследовались: лейкоцитарная формула крови, фагоцитарная активность нейтрофильных лейкоцитов, спонтанный и стимулированный NBT-тест [7], популяционный и субпопуляционный состав лимфоидных клеток периферической крови ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, индекс $CD4^+/CD8^+$, $CD19^+$, $CD16^+$, $CD25^+$, HLA-DR⁺), с идентификацией моноклональными антителами (ДАКО) и детекцией на проточном цитофлуориметре Becton-Dickinson FAX SCAN (England), концентрация сывороточных иммуноглобулинов основных классов (IgA, IgG, IgM) - методом радиальной иммунодиффузии по Mancini. Сывороточную концентрацию IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α и IFN γ определяли твердофазным иммуноферментным методом с использованием наборов и по прилагаемым методикам (Caltag Laboratories, USA) с подготовкой и регистрацией на комплексе приборов ANTHOS 2010 (USA).

Введение раствора Ронколейкина осуществлялось с интервалом 72 часа по 3 инъекции на курс. В трех случаях (при диаметре язвенных дефектов более 2 см и неполной эпителизацией после трех инъекций) количество процедур было увеличено до 5. Ронколейкин, растворенный в 0,9% растворе хлорида натрия вводили параульцерально в подслизистую в 4-6 точек. В каждую точку вводили 0,3-0,5 мл раствора препарата. Суммарная доза Ронколейкина на одну процедуру составляла 0,1 мг. Ввиду того, что у больных НР-ассоциированной ЯБЖ отмечались определенные дисфункциональные изменения в параметрах иммунной системы, а также для индукции

временной системной гиперактивации ее антибактериального и цитотоксического звеньев, одновременно внутривенно (медленно, капельно в течение 4 – 5 часов) вводили 0,4 мг Ронколейкина, растворенного в 400 мл 0,9% NaCl с добавлением 4 - 8 мл 10% альбумина человека.

Результаты

Сроки заживления язвы в основной группе составили $10,79 \pm 0,46$ суток против $35,23 \pm 1,58$ ($p < 0,001$) в контроле. При этом в основной группе в 36% происходила полная эпителизация язвенного дефекта. Наиболее легко поддавались заживлению язвы диаметром до 1,5 см с локализацией в антральном отделе желудка с коротким язвенным анамнезом. Труднее поддавались лечению язвы верхней трети желудка диаметром более 2 см и давностью заболевания более 5 лет.

В исследовании, проведенном через 1 месяц после окончания комплексной терапии с использованием системного и локального (параульцерального) введения Ронколейкина показано, что эрадикация НР отмечена в 95,4% против 81,5% в условиях использования традиционной терапии, через 3 месяца, соответственно, в 86,1% против 75,4%, и через три года – в 83,7% против 56,9% в контроле.

Одним из важнейших показателей, являющимся интегральным с точки зрения качества лечения данного варианта ЯБЖ, является частота рецидивирования, т.к. последняя отражает не только эффективность эрадикационной терапии, но и состояние местных и системных факторов резистентности, обеспечивающих комменсальные взаимоотношения в условиях персистенции данного возбудителя. Так, к 3 месяцам после окончания терапии ни у одного из пациентов основной группы не отмечалось рецидива ЯБЖ, тогда как в группе сравнения у 10,6% пациентов обнаружены рецидивы заболевания и больным в соответствии с рекомендациями назначалась терапия более высокого уровня. К третьему году мониторинга, когда у 16,25% пациентов первой группы была вновь, вероятно, за счет реинфицирования, выявлена хеликобактериальная инфекция, у 13,95% больных отмечались рецидивы заболевания, но частота рецидивирования во второй группе на этом сроке наблюдения составляла 36,9%, то есть была в 2,6 раза более высокой ($p < 0,001$).

Ни на одном сроке исследования не было обнаружено достоверных различий в концентрации сывороточных иммуноглобулинов основных классов как между группами больных ЯБЖ, т.е. в зависимости от варианта проводимой терапии, так и в сравнении со здоровыми добровольцами.

При исследовании фагоцитарной активности нейтрофильных лейкоцитов у больных ЯБЖ, ассоциированной с НР в стадии обострения, выявлено

(табл. 1), что по показателям, отражающим поглотительную активность фагоцитоза, пациенты I и II групп были идентичны и достоверно не отличались от соответствующих параметров здоровых добровольцев. Единственным исключением являлся резко повышенный абсолютный показатель поглощения (АПП), отражающий потенциальную поглотительную активность всех лейкоцитов, содержащихся в одном объеме крови, что обусловлено более высокой абсолютной концентрацией нейтрофильных гранулоцитов. Параметры бактерицидной активности микрофагов у больных ЯБЖ, в особенности индекс бактерицидности, были до лечения достоверно снижены ($p < 0,001$). После окончания курса предлагаемой терапии отмечена резкая стимуляция как поглотительной, так и бактерицидной функции нейтрофильных гранулоцитов. При этом указанные параметры не только превышали значения группы сравнения, но даже данные контрольной группы. В наибольшей степени описанная динамика характерна для индекса бактерицидности (ИБ), который в этот период превышал значения группы сравнения на 70% и контроля - на 46%. Что касается II группы, то достоверной динамики фагоцитарной активности микрофагов по сравнению с исходным состоянием не выявлено. К месячному сроку мониторинга в основной группе отсутствовали значимые различия по сравнению со здоровыми добровольцами при небольшой тенденции к повышению ИБ. В группе сравнения в этот период, несмотря на значительную положительную клиническую динамику, по-прежнему оставался повышенным

АПП и достоверно сниженным - ИБ. Аналогичная тенденция прослеживается и в исследовании, проведенном через 12 месяцев наблюдения. Более того, в этот период проявилась разница ($p < 0,05$) по этим показателям и между группами курируемых больных ЯБЖ, получавших, соответственно, предлагаемую и традиционную терапию.

У больных ЯБЖ, ассоциированной с НР в стадии обострения отмечается (табл. 2) повышение ($p < 0,001$) спонтанного NBT-теста как по проценту формазан-положительных клеток, так и по среднему цитохимическому показателю (СЦП). В то же время, несмотря на то, что стимулированный NBT-тест в обеих группах до лечения также был несколько ($p > 0,05$) более высоким, чем в контроле, все же коэффициент мобилизации у больных ЯБЖ был значительно более низким ($p < 0,001$), чем в группе здоровых добровольцев. После окончания курса предлагаемой терапии в I группе спонтанный NBT-тест еще более увеличился, превышая по проценту формазан-положительных клеток значения контроля на 72%, а исходные - на 48%. Более того, стимулированный NBT-тест, несмотря на высокие значения спонтанного в этот период, в основной группе увеличился в 2 раза по сравнению с исходным ($p < 0,001$). При этом коэффициент мобилизации практически достиг значений контроля ($p > 0,05$). Что касается группы сравнения, то после проведенной стандартной терапии спонтанный NBT-тест и коэффициент мобилизации хотя и несколько снижались, но не достигали значений контроля ($p < 0,01$). К месячному сроку мониторинга боль-

Табл. 1. ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЯБЖ В ПРОЦЕССЕ МОНИТОРИНГА ($M \pm m$; P)

Показатели		ФАЛ (%)	ФЧ (n)	ФИ	АПП $\times 10^6/\text{л}$	% бактерицидности	ИБ
Контрольная группа		62,3±2,9	3,24±0,17	1,99±0,07	6,45±0,49	61,3±3,1	1,58±0,08
До начала терапии	I	64,8±3,7	3,17±0,21	2,05±0,11	9,54±0,81	53,6±4,2	1,15±0,07
	II	65,2±4,0	3,19±0,23	2,08±0,12	9,75±0,86	52,2±4,4	1,09±0,07
После окончания терапии	I	75,7±5,3*	4,14±0,27**	3,13±0,15***	12,26±1,11***	69,8±5,2	2,31±0,17***
	II	61,4±4,1	3,21±0,25	1,97±0,11	8,54±0,69*	57,7±4,6	1,36±0,09
Через 1 месяц после окончания терапии	I	66,3±4,6	3,37±0,23	2,17±0,10	7,56±0,61	63,4±4,1	1,73±0,11**
	II	62,4±3,8	3,22±0,25	2,01±0,13	8,61±0,70*	55,1±3,3	1,23±0,08
Через 12 месяцев после окончания терапии	I	61,3±3,4	3,14±0,29	1,92±0,13	6,71±0,54*	59,7±4,3	1,48±0,11*
	II	66,5±4,2	3,27±0,25	2,17±0,12	9,40±0,79*	52,8±3,3	1,12±0,12

Примечания: 1) здесь и далее знак «», обозначает достоверность различий $p < 0,05$; знак «**» - $p < 0,01$; знак «***» - $p < 0,001$; 2) знак «*», поставленный над параметром - достоверность различий по сравнению с контролем; под параметром - по сравнению с предыдущим значением параметра.

Табл. 2. ДИНАМИКА NBT-ТЕСТА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЯБЖ В ПРОЦЕССЕ МОНИТОРИНГА (M±m; P)

Группы	Показатели	Спонтанный NBT-тест		Стимулированный NBT-тест		Коэффициент мобилизации
		%	СЦП	%	СЦП	
Контрольная группа		5,1±0,3	0,127±0,009	14,3± 1,0	0,319±0,014	2,80±0,18
До начала терапии	I	*** 9,4± 0,7	*** 0,216±0,013	15,1±1,9	0,291±0,016	*** 1,61±0,17
	II	*** 9,1±0,7	*** 0,209±0,014	15,2±1,7	0,284±0,014	*** 1,67± 0,18
После окончания терапии	I	*** 13,9± 0,6 ***	*** 0,323±0,017***	*** 29,9±2,3 ***	*** 0,576±0,033 ***	*** 2,35±0,28 *
	II	** 7,8± 0,6	** 0,179±0,011	13,3±1,6	0,277±0,015	** 1,71±0,19
Через 1 месяц после окончания терапии	I	** 4,3± 0,3 **	*** 0,104±0,008 ***	15,9±1,2	** 0,398±0,021 **	** 3,70±0,30 **
	II	* 6,2± 0,4	0,155±0,011	14,6±1,3	0,302±0,014	2,35±0,26
Через 12 месяцев после окончания терапии	I	* 5,2 ±0,4 *	0,131±0,010	13,8±1,1	0,312±0,016	* 2,65±0,21 *
	II	* 6,8±0,6	0,154±0,012	14,1±1,2	0,296±0,014	* 2,07±0,21

шинство показателей NBT-теста в обеих группах не отличалось от здоровых добровольцев за исключением более высокого ($p < 0,01$) СЦП и коэффициента мобилизации стимулированного NBT-теста в I группе. В исследовании, проведенном через 12 месяцев мониторинга, в основной группе параметры NBT-теста ни по одному значению не отличались от контрольных, тогда как в группе сравнения, несмотря на значительную положительную динамику, по-прежнему отличались ($p < 0,05$) от здоровых добровольцев и от основной группы из-за более высокого спонтанного NBT-теста и низкого коэффициента мобилизации.

При исследовании популяционного и субпопуляционного состава лимфоидных клеток у больных ЯБЖ, ассоциированной с НР до лечения (табл.3) отмечается снижение Т-лимфоцитов за счет относительной ($P < 0,05$) и, в особенности, абсолютной ($P < 0,01$) концентрации Т-хелперов. Данный дисбаланс в субпопуляционном составе Т-лимфоцитов весьма демонстративно проявляется при анализе соотношения $CD4^+/CD8^+$, которое является достоверно ($p < 0,05$) более низким по сравнению с группой здоровых-добровольцев. С нашей точки зрения еще более патогномичным для обострения данного заболевания является увеличение в периферической крови на 28 – 47% относительной и, отчасти, абсолютной концентрации лимфоцитов, несущих мембранный рецептор к $IL-2^+$ и $HLA-DR^+$ лимфоцитов. Концентрация NK-клеток также несколько превышала контрольные значения, но эти различия не были достоверными. По окончании курса предлагаемой терапии отмечалось выраженное на 34-44% повышение концентрации $CD4^+$, сопровождающееся нормализацией соотношения $CD4^+/CD8^+$. Абсолютная и относительная концентрации

NK-клеток у больных этой группы увеличивалась по сравнению с исходными данными, соответственно, на 67 и 84%, $CD25^+$ лимфоцитов – на 98-118%, $HLA-DR^+$ лимфоцитов – на 145-167% ($p < 0,001$). Во второй группе в этот период абсолютная концентрация Т-хелперов по-прежнему оставалась на значительно более низком уровне по сравнению с контролем при небольшом, но достоверном ($p < 0,05$) увеличении количества В-клеток. Что касается концентрации $CD16^+$, $CD25^+$ и $HLA-DR^+$, то они сразу после окончания курса традиционной терапии практически не изменялись, оставаясь на достоверно ($p < 0,05$ – $p < 0,01$) более высоком уровне по сравнению с контролем, но являясь при этом более низкими по сравнению с соответствующими параметрами I группы больных. Через 1 месяц после окончания курса терапии в основной группе почти все изучаемые в данном исследовании параметры не отличались от значений контроля. Лишь абсолютная концентрация $CD16^+$, оставаясь в пределах физиологической нормы, была более низкой ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. В исследовании, проведенном через 12 месяцев после окончания терапии, в основной группе ни один из изученных параметров, отражающих популяционный и субпопуляционный состав лимфоидных клеток периферической крови пациентов I группы, не отличался от контроля. В то же время у больных II группы вновь, в отличие от данных месячного мониторинга, появились достоверные отличия не только по сравнению с группой здоровых добровольцев, но и с I группой, заключавшиеся в повышении концентрации $CD25^+$, $HLA-DR^+$ и $CD16^+$ клеток.

В группе здоровых добровольцев (рис.1) сывороточная концентрация исследованных цитокинов

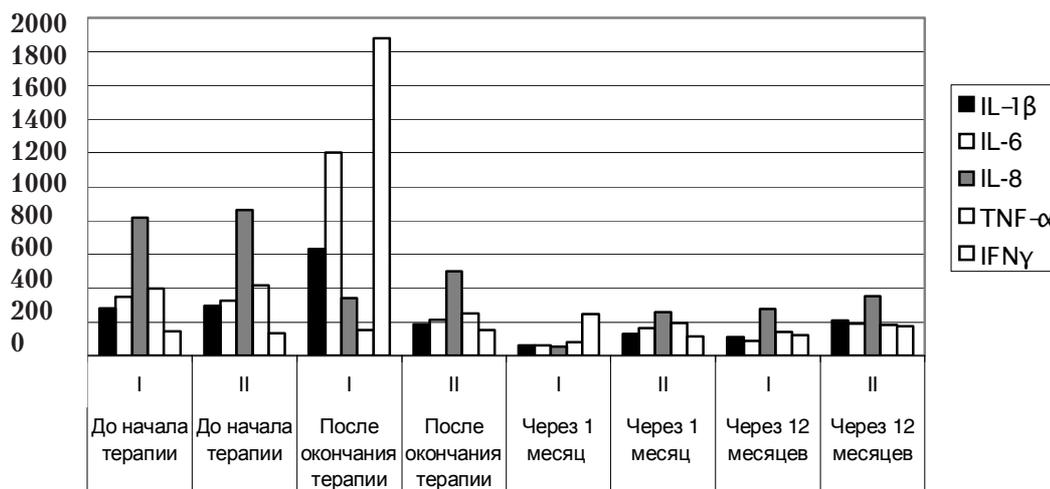


Рис. 1. Цитокиновый спектр сыворотки крови (в % от контроля) больных ЯБЖ в процессе мониторинга

была минимальной. У больных ЯБЖ в стадии обострения обнаружено увеличение сывороточной концентрации IL-1 β в среднем в 2,9 раза ($p < 0,001$), IL-6 - в 3,2 – 3,5 раза ($p < 0,05$), IL-8 - в 8,1 – 8,6 раза ($p < 0,001$) и TNF α - в 4 раза ($p < 0,01$). В то же время выраженной ответной системной реакции на данный вариант воспаления со стороны IFN γ не отмечалось. После окончания курса терапии в основной группе концентрация IL-1 β еще более повысилась, тогда как в группе сравнения несколько снизилась, продолжая оставаться более высокой ($p < 0,001$) по сравнению с контролем, но значительно ($p < 0,05$) более низкой в сравнении с соответствующим параметром I группы. Через один месяц после окончания курса терапии концентрация данного интерлейкина в обеих группах не отличалась от значений контроля. Динамика IL-6 в сыворотке крови больных ЯБЖ в процессе лечения и последующего мониторинга по направленности практически повторяла описанную ранее для IL-1 β , хотя подъем концентрации данного цитокина в I группе после окончания курса терапии был в 3,4 раза более значительным. Концентрация IL-8, будучи значительно увеличенной, как указывалось ранее, у всех обследованных больных, после курса лечения предлагаемым методом снижалась почти в 2,5 раза, оставаясь все же на достоверно ($p < 0,05$) более высоком уровне по сравнению с контролем. Во второй группе на этом сроке исследования отмечалась аналогичная по направленности, но не столь выраженная по абсолютным цифрам динамика данного интерлейкина. К месячному сроку мониторинга концентрация IL-8 у пациентов основной группы, хотя и недостоверно, но была даже ниже соответствующих значений здоровых добровольцев, тогда как в группе сравнения - превышала значения контроля. При этом отмечалась выраженная ($p < 0,01$) разница между параметрами пациентов основной и группы сравнения. В исследовании, проведенном после 12 месяцев мониторинга, концентрация IL-8 у

пациентов I группы повышалась, но, несмотря на почти трехкратное превышение параметров контроля, из-за высокого коэффициента вариации, достигающего 25%, достоверно от него не отличалась.

Сывороточная концентрация IFN γ у больных ЯБЖ в стадии обострения достоверно не отличалась от здоровых добровольцев и пациентов второй группы, оставалась на том же самом уровне весь период лечения и мониторинга. В то же время, в условиях лечения с системным и местным применением ронколейкина после окончания курса терапии концентрация IFN γ увеличилась в 13,2 раза, превысив как значения контроля ($p < 0,01$), так и соответствующие параметры группы сравнения. К месячному сроку после окончания основного курса терапии концентрация IFN γ в основной группе снизилась в 8 раз, но по-прежнему оставалась более высокой, чем у здоровых добровольцев и пациентов второй группы. На двенадцатимесячном сроке мониторинга существенных различий между группами по сывороточной концентрации IFN γ не выявлено.

Обсуждение

Wakatsuki Y. с соавторами [20] показали, что индукция неспецифического T-клеточного ответа приводит к резкому 10-кратному снижению колонизации желудка НР, а Ihan A. с соавторами [10] обнаружили значительное повышение экспрессии рецепторов для IL-2 и продукции лимфокинов в инфильтрирующих слизистую желудка T-лимфоцитах резистентных индивидуумов. К тому же по их данным через 3 и 12 месяцев после эрадикации НР резко снижается количество CD25 $^+$ лимфоцитов и внутриклеточный синтез IFN γ , что свидетельствует о том, что иммунная активация в слизистой желудка является защитной и зависит от присутствия НР. В слизистой желудка и тонкого кишечника присутствуют CD4 $^+$ и CD8 $^+$ T-лимфоциты. Повышение экспрессии

Табл. 3. ПОПУЛЯЦИОННЫЙ И СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИДНЫХ КЛЕТОК КРОВИ БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЖЕЛУДКА В ПРОЦЕССЕ МОНИТОРИНГА (M ± m; P)

Показатели	CD3 ⁺		CD4 ⁺		CD8 ⁺		CD4 ⁺ / CD8 ⁺		CD19 ⁺		CD16 ⁺		CD25 ⁺		HLA - DR		
	%	n x 10 ⁹ /л	%	n x 10 ⁹ /л	%	n x 10 ⁹ /л	%	n x 10 ⁹ /л	%	n x 10 ⁹ /л	%	n x 10 ⁹ /л	%	n x 10 ⁹ /л	%	n x 10 ⁹ /л	
Контрольная группа	71,2± 5,6	1,37± 0,08	52,3± 4,4	1,01± 0,06	24,1± 1,7	0,47± 0,03	2,17± 0,16	15,6± 1,3	0,30± 0,02	11,5± 0,8	0,22± 0,02	12,6± 0,3	8,7± 0,6	0,24± 0,02	0,17± 0,01		
	57,1± 5,1	1,09± 0,07	40,4± 3,9	0,77± 0,04	23,4± 1,8	0,45± 0,04	1,72± 0,13	18,1± 1,4	0,35± 0,03	14,1± 1,0	0,26± 0,02	15,2± 0,9	12,8± 0,9	0,29± 0,02	0,24± 0,02	*	*
До начала терапии	56,3± 3,6	1,07± 0,07	38,6± 3,9	0,74± 0,04	23,7± 1,7	0,45± 0,04	1,62± 0,13	17,8± 1,6	0,34± 0,02	13,3± 0,9	0,25± 0,02	16,4± 0,9	11,5± 1,0	0,31± 0,03	0,22± 0,2	**	**
	67,6± 6,2	1,39± 0,09	54,1± 3,9	1,11± 0,07	24,6± 2,0	0,60± 0,04	2,20± 0,16	17,2± 0,13	0,36± 0,03	23,6± 2,9	0,48± 0,03	30,1± 2,5	31,4± 2,9	0,63± 0,04	0,64± 0,04	***	***
После окончания терапии	60,2± 5,3	1,16± 0,06	42,3± 3,3	0,81± 0,06	22,7± 1,9	0,44± 0,03	1,85± 0,12	19,3± 1,3	0,37± 0,04	13,0± 1,2	0,25± 0,02	14,0± 0,9	12,1± 1,1	0,27± 0,02	0,23± 0,02	**	**
	67,9± 5,5	1,22± 0,10	49,9± 4,2	0,89± 0,06	22,9± 1,7	0,41± 0,03	2,20± 0,17	14,1± 1,1	0,25± 0,02	10,2± 0,7	0,18± 0,02	10,5± 0,7	8,5± 0,7	0,19± 0,02	0,15± 0,01	*	*
Через 1 месяц после окончания терапии	59,4± 5,1	1,13± 0,07	46,6± 3,8	0,89± 0,06	24,3± 1,7	0,46± 0,03	1,94± 0,15	16,7± 1,4	0,32± 0,03	13,1± 0,8	0,25± 0,02	15,3± 0,8	11,1± 1,0	0,29± 0,03	0,21± 0,02	*	*
	58,8± 5,7	1,13± 0,06	48,9± 4,5	0,91± 0,06	23,1± 1,9	0,43± 0,03	2,12± 0,16	16,1± 1,6	0,30± 0,03	12,4± 0,9	0,23± 0,02	11,7± 0,5	9,3± 0,6	0,22± 0,02	0,17± 0,01	*	*
Через 12 месяцев после окончания терапии	58,8± 5,7	1,13± 0,06	42,4± 3,5	0,81± 0,06	22,5± 2,0	0,43± 0,04	1,88± 0,14	17,3± 1,5	0,33± 0,02	14,2± 0,9	0,27± 0,02	14,2± 0,7	11,8± 0,8	0,27± 0,03	0,22± 0,02	*	*

IL-12 mRNA в слизистой желудка больных ЯБЖ, контаминированных *СagA*⁺ НР также свидетельствует о преимущественно Th1 ответе на данную инвазию [9]. Критическими транскрипционными факторами в переключении дифференцировки CD4⁺-лимфоцитов на Th1 либо на Th2 генотипы являются гены T-bet и GATA-3. НР индуцирует ген T-bet и супрессирует GATA-3, что приводит к Th1 поляризации созревания Т-лимфоцитов [13]. Однако в присутствии *Сag-A*⁺ НР происходит остановка пролиферации Т-клеток на стадии G1, что может являться одним из факторов хронической персистенции микроорганизмов [7,16]. Поэтому можно предположить, что системное и местное введение ронколейкина приводит к резкому повышению концентрации IL-2, являющегося одним из неспецифических факторов пролиферации и дифференцировки лимфоидных клеток, и, во-первых, индуцирует полноценное созревание Th1-клеток с экспрессией всех присущих им свойств, во-вторых, непосредственно повышает эффективность функциональную активность клеток мононуклеарно-фагоцитарной системы, CD8⁺/HLA-DR⁺ и НК-клеток, что приводит к элиминации как внеклеточных НР, так и клеток ими инвазированных.

Резюмируя можно заключить, что предлагаемая комплексная терапия язвенной болезни желудка, ассоциированной с *Helicobacter pylori*, с использованием системного и локального (параульцерального) применения аналога эффекторного и регуляторного цитокина IL-2 – Ронколейкина, индуцирует временную фазную активацию синтеза IFN γ , IL-1 β , IL-6, сопровождающуюся снижением синтеза IL-8 и TNF α , что приводит к резкому увеличению количества и функциональной активности CD16⁺, CD8⁺, HLA-DR⁺, CD25⁺ и CD4⁺ клеток, стимуляции микро- и, вероятно, макрофагального эффективного фагоцитоза.

за, элиминации клеток с внутриклеточными паразитами и, в конечном итоге, к эрадикации *Helicobacter pylori* без применения антибактериальной терапии.

Таким образом, предложенный клинически и патогенетически обоснованный комплексный метод лечения больных язвенной болезнью желудка, ассоциированной с НР с применением местного (параульцерального) и системного введения Ронколейкина без использования антибиотиков по клиническим, экономическим и иммунологическим критериям является более эффективным по сравнению со стандартным, практически не имеет осложнений и противопоказаний и может применяться как в стационарных, так и в амбулаторных условиях.

Список литературы

1. Авакимян А.В. Эндоскопическое лечение язвенной болезни желудка. // Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Краснодар, 1999.-24 с.
2. Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л. Гастроэнтерология XXI века. // Русский медицинский журнал.- 2000; Т.8., № 17.- С. 697-703.
3. Назаров В.Е. Применение ронколейкина в лечении осложненных форм язвенной болезни луковицы двенадцатиперстной кишки // Материалы конференции: «Ронколейкин – новые аспекты клинического применения». 10 марта 1999.-СПб МАПО. - С.-Петербург, 1999. - С.24-27.
4. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А. Методы оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов.- Краснодар, 1992, 20 с.
5. Шаробаро В.И., Богачев Р.С., Соловьев А.С. Определение субпопуляционного состава клеток иммунной системы больных язвой двенадцатиперстной кишки // Росс. журн. гастроэнтер. гепатол. колопроктол. - 1999. - Т.9.- № 6. – С. 49-52.
6. Blaser M. Hypothesis: the changing relationships of *Helicobacter pylori* and humans: implications for health and disease // J. Infect Dis.- 1999.-Vol.179, №6.- № 15.-P.23-30.
7. Endres N., Volland P., Neumayer N., Gerhard M., Wagner H., Prinz C. Incubation of peripheral blood lymphocytes with *H.pylori* leads to a G1 arrest: a mechanism for immune evasion // Current Opinion in Gastroenterology.- 2001.- Vol 17.- Suppl. 1.-P.129.
8. Fernando N., Holton J., Kengatharan K., Vaira D. Immune and cytokine response to *Helicobacter* antigens in control and TAP-1 mice // Current Opinion in Gastroenterology.- 2001.- Vol 17.- Suppl. 1.-P.131.
9. Hida N., Shimoyama T. Jr., Neville P., Dixon M.F., Axon A.T., Shimoyama T. Sr., Crabtree J.E. Increased expression of IL-10 and IL-12 (p40) mRNA in *Helicobacter pylori* infected gastric mucosa: relation to bacterial cog status and peptic ulceration // J. Clin. Pathol.- 1999 Sep.- Vol.52, № 9.- P. 658-664.
10. Ihan A., Tepez B., Gubina M., Malovrh T., Kopitar A. Diminished interferon-gamma production in gastric mucosa T lymphocytes after *H. pylori* eradication in duodenal ulcer patients // Hepatogastroenterology.- 1999 May-Jun.- Vol.46, №27.- P. 1740-1745.
11. Imanishi J., Kita M., Yamaoka Y., Sawai N., Tanahashi T., Kodama T. Le role des cytokines dans la pathogenese des maladies gastro-intestinales associees a l'infection par *Helicobacter pylori* // C.R. Seances. So. Biol. Fil.- 1998.- Vol. 192, №5.- P.991-996.
12. Kuipers E.J. *Helicobacter pylori* and the risk and management of associated diseases: gastritis, ulcer disease, atrophic gastritis and gastric cancer. // Aliment. Pharmacol. Ther. – 1997.- №11(Suppl. 1)- P.71-88.
13. Luzzi F., T. Parrello, L. Sebkova, L. Pensabene, M. Imeneo, M. Mancuso, A.M. La Vecchia, G. Monteleone, P. Strisciuglio, and F. Pallone. 2001. Expression of proinflammatory and Th1 but not Th2 cytokines is enhanced in gastric mucosa of *Helicobacter pylori* infected children. // Dig. Liver Dis.- Vol. 33.-P.14-20.
14. Marshall B.J. *Helicobacter pylori*: the aetiologic agent for peptic ulcer // JAMA.-1995.-Vol.274.-P.1064-1066.
15. Mitchell H. M., Wiseman M., Ally R., Ahmed R., Segal I. The cytokine response to *H. pylori* is significantly different in symptomatic Sowetans compared with symptomatic Australians // Current Opinion in Gastroenterology.- 2001.- Vol 17.- Suppl 1.-P.17.
16. Queiroz D.M.M., Cinque S.M.S., Rocha G.A., Soares T.F., Cabral M.D.A., Nogueira A.M.F., Correa-Oliveira R., Martins-Filho O.A. The role of Th1 and Th2 immune response in *Helicobacter heilmannii* (Hh)-associated infection // Current Opinion in Gastroenterology.- 2001.- Vol.-17.- Suppl 1.-P.62.
17. Rubin J., Lotze M. Acute gastric mucosal injury associated with the systemic administration of interleukin-4 // Surgery.- 1992. – Mar. - Vol.111, №3. – P.274-280.
18. Sharma S.A., Tummuru M.K., Blaser M.J., Kerr, L.D. Activation of IL-8 gene expression by *Helicobacter pylori* is regulated by transcription factor nuclear factor-kappa B in gastric epithelial cells // J. Immunol.- 1998 Mar 1.- Vol. 160, № 5.-P. 2401-2407.
19. Yamaoka Y., Kodama T., Kita M., Imanishi J., Kashima K., Graham D.Y. Relation between clinical presentation, *Helicobacter pylori* density, interleukin 1-beta and 8 production, and *cagA* status // [published erratum appears in Gut 2000] Apr;46(4):584]. // Gut.- 1999 Dec.-Vol.4, №6.- P.804-811.
20. Wakatsuki Y., Shirai Y., Yamori M., Yoshida M., Watanabe T. A cellular immune response non-specific to *H.pylori* is still effective to prevent colonization in the stomach // Current Opinion in Gastroenterology.- 2001.- Vol 17.- Suppl 1.- P. 140.

поступила в редакцию 25.02.2005
принята к печати 15.03.2005