



А. И. Шати́хин

**ГЕПАТОЛОГИЯ
И ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЯ СЕГОДНЯ**

ПОСВЯЩАЕТСЯ 70-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ

АНДРЕЯ ИОНОВИЧА ШАТИХИНА



*Гепатология
и гастроэнтерология сегодня*

(Посвящается 70-летию со дня рождения
профессора Шатихина Андрея Ионовича)

Под редакцией профессора О.Н. Минушкина

Москва 2008

**ЯЗВЕННАЯ БОЛЕЗНЬ: ИММУНИТЕТ И АПОПТОЗ.
ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ РОЛЬ ПРЕПАРАТА «ДЕРИНАТ»**

Шатихин А.И., Сурнакова Н.Е

Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова

НР-инфекция сопровождается повышенной инфильтрацией пораженных слизистых оболочек полиморфно-ядерными нейтрофилами и мононуклеарами. Н. рyогі вызывает воспаление с повреждением клеток ЖКТ и активацией клеток иммунной системы. НР обладает такими присущими ему факторами вирулентности как: а) способность к колонизации слизистых оболочек ЖКТ; б) способность к адгезии; в) уреазная активность; г) высокая устойчивость к действию кислот. Особенностью НР является его уреазная активность, которая позволяет ему расщеплять белки слизистой желудка, проникать в подслизистый слой и адгезироваться на клетках, а на поздних стадиях инфекционного процесса уреазы модулирует активность иммунной системы. НР обладает вирулентной способностью благодаря наличию в нем VacA- вакуолизирующего цитотоксина (обнаруживается у 40% штаммов НР) и CagA- цитотоксического и иммуномодулирующего белка (обнаруживается у 60-90% штаммов НР), вызывающего более сильное воспаление, нейтрофильную инфильтрацию, продукцию ряда цитокинов (ИЛ-8 и др.). В ответ на инвазию НР развивается защитная иммунная реакция, однако из-за специфических свойств НР иммунная система не способна самостоятельно элиминировать НР. При НР инфекции отмечаются отчетливые изменения клеточного иммунитета: цитотоксические Т-лимфоциты преобладают при язвенной болезни желудка, в ответ на инвазию слизистых оболочек желудка включается В-клеточное звено иммунитета и синтезируются антиНР IgA и IgG. При НР-ассоциированной язвенной болезни желудка отмечается повышение продукции ФНО- α (фактора некроза опухоли) и ИНФ- γ (γ -интерферон). Длительная и чрезмерная продукция последнего (индуцированной НР) нарушает метаболизм и секрецию слизи и HCl, что обуславливает повреждение эпителиальных клеток ЖКТ. Показано, что НР взаимодействует с молекулами системы гистосовместимости II класса (МНС II кл.) на поверхности эпителиальных клеток, запуская процесс апоптоза в этих клетках. Увеличение интенсивности апоптоза способствует хронизации воспаления слизистых оболочек ЖКТ и может обуславливать метаплазию эпителия, которая является предраковым состоянием. Апоптоз также в немалой степени активируется оксидом азота (ЭВДФ), синтез которого стимулируется ИНФ- γ и ФНО- α . Поэтому увеличение продукции оксида азота является одним из механизмов повреждения клеток ЖКТ.

Апоптоз — процесс запрограммированной гибели клеток, описанный четверть века назад, продолжает привлекать пристальное внимание ученых. В организме постоянно протекают процессы деления и роста клеток, которые сопровождаются альтернативным, точнее постоянным процессом удаления старых поврежденных ненужных организму клеток. Термин «апоптоз» появился в Древней Греции во времена Гомера для обозначения опадания лепестков с цветков. В морфологии данный термин был введен для обозначения особоб-

40/270, что объясняет причину выраженной задержки репарации язвенного дефекта. В литературе широко обсуждается вопрос об отношении иммунного статуса пациентов, больных язвенной болезнью, инфицированных НР. Исследования показали прямой эффект НР на рост эпителиальных клеток желудка, синтез ДНК, апоптоз и модулирующую роль этих процессов в провоспалении. Инкубация гастральных клеток с НР вызывала временную и концентратзависимое ингибирование роста эпителиальных клеток. Это замедление роста эпителия может быть следствием либо уменьшения скорости клеточной пролиферации, либо увеличением скорости гибели клеток вследствие апоптоза или комбинации этих процессов.

В здоровом желудке существует баланс между клеточной пролиферацией и апоптозом стареющих клеток. Было показано, что апоптоз является причиной большей части смертей клеток слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, в том числе и желудка. Он являлся также и центральным звеном регуляции количества клеток в желудочной слизистой, в то время как слущивание эпителиальных клеток играет гораздо меньшую роль. В желудке здорового человека апоптоз происходит из самой поверхностной части слизистой и направляется к основанию желудочной железы. При хеликобактерном гастрите усиленный апоптоз развивается только или преимущественно на поверхностном участке желудочной железы. Апоптоз индуцируется прямо НР и усиливается ассоциированным воспалительным ответом. Большое число НР или сильный иммунный ответ могут разрушить равновесие чрезмерным апоптозом или/и ингибированием эпителиальной пролиферацией, в результате чего образуется пептическая язва или атрофия слизистой. При инфицировании пациентов НР была обнаружена динамика содержания моноцитов, нейтрофилов, лимфоцитов, их субпопуляций и активационных форм клеток, отражающих иммунопатологическое инфекционно-воспалительное заболевание.

В задачу данной работы входило изучение иммунологического статуса и влияния влияния отечественного универсального иммуномодулятора Деринат на иммунные характеристики по 15 показателям и экспрессию рецептора CD95, опосредующего апоптоз после курсового лечения пациентов с язвенной болезнью 12-ти перстной кишки (НР+).

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находилось 17 больных язвенной болезнью луковицы 12-ти перстной кишки в возрасте от 23 до 53-х лет со средней давностью заболевания $9 \pm 1,5$ года. У всех больных отмечалась клиническая симптоматика обострения язвенной болезнью, которая была верифицирована гастродуоденоскопией, по ходу которой назначалась терапия деринатом по 5,0 мл в/м №10.

Деринат (аббревиатура от дезоксирибонуклеинат Na) натриевая соль дезоксирибонуклеината, растворенная в 0,1% водном растворе хлорида натрия. Биологически активное вещество, выделяемое из молок осетровых рыб. Нормализует иммунный статус на клеточном и гуморальном уровнях; обладает неспеци-

го, в противоположность некрозу способа гибели клеток. В настоящее время апоптоз определяется как форма гибели отдельных клеток, возникающая под действием вне- и внутриклеточных факторов, осуществляющаяся путем активации специализированных внутриклеточных процессов, регулируемых определенными генами. В отличие от некроза апоптоз не только программируемая организмом гибель клетки, но и процесс, в котором, в котором программу гибели запускает информационный сигнал, в то время как при некрозе таким пусковым механизмом является повреждающий агент. Некроз является проявлением патологии, апоптоз – проявлением многих естественных процессов, а также адаптации клеток к повреждающим факторам. Некроз заканчивается лизисом клетки и освобождением ее содержимого в межклеточное пространство, а апоптоз завершается фагоцитозом макрофагами и гранулоцитами ненужных клеток. При реализации апоптоза выделяют условно 4 стадии: инициация → программирования → реализации программы → удаление погибшей клетки. В стадию инициации информационные сигналы рецептируются клеткой. Сигналом может быть сам патогенный агент или он обуславливает генерацию сигнала в клетке и проведение его к внутриклеточным регуляторным структурам. Так, связывание ФНО (FaSL) с его миграцией рецептором CD95 (Fas) активирует программу апоптоза. Стадия программирования реализуется: а) путем прямой активации эффекторных цистеиновых протеаз (каскад и эндонуклеаз) либо б) опосредованно через геном передачи сигнала на эффекторные каскады и эндонуклеазы. Прямая передача сигнала осуществляется через адапторные белки, гранзимы и цитохром С. Через адаптерные белки реализуют свое действие цитокины Т-лимфоцитов-киллеров в отношении чужеродных клеток, ФНО и другие лиганды CD95. В стадию реализации программы происходит собственно гибель клеток, осуществляемая посредством активации протеолитического и нуклеотического каскадов. Непосредственным исполнителем процесса «умерщвления» клетки является Ca^{2+} и Mg^{2+} зависимые эндонуклеазы (катализируют каскад нуклеиновых кислот) и эффекторные каскады, подвергающие расщеплению белки, ферменты и др. В результате разрушения белков клетка подвергается деструкции, а оставшиеся ферменты, содержащие цитоплазмы, хроматин и др. – образуют апоптозные тельца. На поверхности последующих экспрессируются лиганды, с которыми взаимодействуют рецепторы фагоцитарных клеток. Фагоциты обнаруживают, поглощают и разрушают апоптозные тельца.

В клинической практике процессы апоптоза усиленно изучаются, например, в гастроэнтерологии. В настоящее время в развитии язвенной болезни отводится существенная роль инфекционному агенту НР, который индуцирует апоптоз, усиливает гибель клеток в краях язв, затрудняет их заживление (как непосредственным влиянием липополисахаридов и NH_3 , образующегося при расщеплении мочевины уреазой) так и путём торможения миграции эпителиоцитов в язвенных дефектах. Особенно высокой апоптозной активностью обладает CagA (цитотоксический белок) штаммы НР, резко тормозящие пролиферацию эпителия. НР резко нарушают соотношение пролиферация-гибель клеток. Так, при изучении экспериментальных язв у крыс это соотношение составило

фическим общебиологическим действием на все органы и ткани; повышает устойчивость клеток к ишемии; нормализует клеточную регенерацию, активируя моноцитарно-макрофагальную систему, повышает фагоцитоз; обладает антиоксидантными свойствами. Безвреден, не имеет побочного действия.

Контрольную группу составили 12 больных ЯБ 12-ти перстной кишки близкой к исследуемой группе по возрасту, полу и давности заболевания, получавших антихеликобактерную и противоязвенную терапию. До лечения у всех больных был изучен иммунный статус по 15 параметрам и экспрессия рецептора CD95 на лимфоцитах. Группу сравнения составили 30 здоровых добровольцев. Использовали панель антиклональных антител CD3, CD4, CD8, CD11b, CD14, CD16, CD22, CD25, CD38, CD54, CD56, CD72, CD95.

Оценку флуоресценции проводили проточной цитометрией на цитофлуориметре FacScalibur фирмы Becton Dickinson. Учитывая % флуорисцирующих клеток, регистрируя все клетки каждой субпопуляции. Для каждого образца изучали по 500 клеток.

Результаты и их обсуждение

На фоне проводимой деринатом терапии на 7-й день терапии у больных исчез болевой синдром, на 5 день тошнота. После десятидневного курса (5 инъекций) дерината отмечено рубцевание язв у 11 больных, после 7 инъекций у 15, после 10 – у всех больных.

Особого внимания заслуживает сравнение эффективности действия дерината и 3-х компонентной схемы лечения. Было установлено, что после 10 дневного курса дерината полное заживление язвенных дефектов наступало в 88,9% случаев. Полное рубцевание язвенного дефекта у больных контрольной группы произошло в 48,9% случаев. Эти наблюдения свидетельствуют о мощном репаративном действии дерината, которые подтверждают экспериментальные данные о возможности дерината повышать степень дифференцировки вновь образованной слизистой и способствует эпителизации язвенного дефекта, что обусловлено стимуляцией синтеза нуклеиновых кислот и белка.

Полученные в данной работе новые результаты о состоянии апоптоза у больных язвенной болезнью позволяет высказаться о дополнительных важных механизмах? Лежащих в основе язвообразования и особенно процесса рубцевания язвенных дефектов.

У больных, леченных стандартным методом (ингибиторами кислотопродукции и эрадикационным лечением) выявлена лишь незначительная тенденция к снижению числа лимфоцитов, экспрессирующих рецептор CD95, что коррелировало со слабо положительной динамикой заживления эрозивно-язвенных дефектов. У пациентов же леченных иммуномодулятором деринат обнаружено существенное уменьшение количества CD95 лимфоцитов, сочетавшейся с отчетливой редукцией клинической симптоматики болезни (см. табл). Таким образом, терапия больных язвенной болезнью 12-ти перстной кишки иммуномодулятором деринат снижает интенсивность экспрессии лимфоцитами рецепторов CD95 и степень их вовлечения в апоптоз. Уменьшение степени выражен-

ности апоптоза способствует заживлению язвенного дефекта. Таким образом, благодаря нашим новым представлениям о состоянии иммунитета и апоптоза у больных язвенной болезнью, ассоциированной с НР, мы можем на современном уровне решать вопросы лечебной тактики данного заболевания с использованием новейших иммуномодуляторов.

Литература:

1. Каплина Э. Н., Вайнберг Ю. П. «Деринат - природный иммуномодулятор для детей и взрослых». М. Научная книга 2004 г., с. 181.