

Показатели клеточного иммунитета в крови больных атрофическим гастритом и раком желудка

А. А. Синяков, О. В. Смирнова, В. В. Цуканов, Э. В. Каспаров, А. В. Васютин

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, г. Красноярск

Цель работы: изучить особенности клеточного звена иммунитета в крови больных атрофическим гастритом тела желудка и раком желудка.

Дизайн: рандомизированное сравнительное исследование.

Материалы и методы. Обследованы 85 больных с умеренным атрофическим гастритом тела желудка, 25 пациентов с выраженным атрофическим гастритом тела желудка, 50 больных раком желудка и 90 практически здоровых лиц в возрасте от 25 до 65 лет. Диагностика атрофического гастрита включала определение содержания пепсиногена I, пепсиногена II и антител к *Helicobacter pylori* в сыворотке крови, а также морфологическое исследование слизистой оболочки желудка. Состояние клеточного звена иммунитета в крови оценивали методом непрямой иммунофлюоресценции с применением моноклональных антител (CD3, CD4, CD8, CD16).

Результаты. По сравнению со здоровыми участниками исследования, у пациентов с выраженным атрофическим гастритом тела желудка и раком желудка обнаружено снижение доли субпопуляций Т-хелперов, Т-киллеров, относительного содержания натуральных киллеров и соотношения клеток CD4⁺/CD8⁺.

Заключение. У пациентов с атрофическим гастритом тела желудка и раком желудка зарегистрированы однонаправленные изменения иммунного статуса с развитием вторичного иммунодефицита.

Ключевые слова: рак желудка, атрофический гастрит, клеточный иммунитет, лимфоциты.

Blood Parameters of Cell-Mediated Immunity in Patients with Atrophic Gastritis and Gastric Cancer

A. A. Sinyakov, O. V. Smirnova, V. V. Tsukanov, E. V. Kasparov, A. V. Vasyutin

Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk

Objective of the Paper: To examine the specific features of blood immune cells in patients with atrophic body gastritis and gastric cancer (GC).

Study Design: This was a randomized, comparative study.

Materials and Methods: As part of an experiment, the authors examined 85 patients with moderate atrophic body gastritis, 25 patients with severe atrophic body gastritis, 50 patients with gastric cancer, and 90 apparently healthy subjects. All patients were aged 25 to 65. Diagnosis of atrophic gastritis included measurements of the serum levels of pepsinogen I, pepsinogen II, and antibodies against *Helicobacter pylori*; and morphological assessment of the gastric mucosa. Blood immune cells were assessed by an indirect immunofluorescence assay with monoclonal antibodies (CD3, CD4, CD8, and CD16).

Results: Compared to healthy study participants, patients with severe atrophic body gastritis and gastric cancer had lower counts of helper T-cells and killer T-cells, lower relative counts of natural killer T-cells, and a lower CD4⁺/CD8⁺ ratio.

Conclusion: Patients with atrophic body gastritis and gastric cancer had similar changes in their immune profiles, which led to secondary immunodeficiency.

Keywords: gastric cancer, atrophic gastritis, cell-mediated immunity, lymphocytes.

Проблема диагностики и лечения рака желудка (РЖ) весьма актуальна во всем мире [8]. В связи с этим ведется активный поиск новых путей диагностики предраковых изменений и профилактики онкологической патологии [2, 12].

Фундаментальным аспектом патогенеза рака признано изменение иммунного статуса [1, 11]. Предположительно опухоль способна индуцировать иммуносупрессию, что может приводить к неэффективности противоопухолевой иммунотерапии [7]. Поскольку хронический гастрит является предраковым заболеванием, большой интерес представляет сравнительное изучение иммунного статуса у пациентов с гастритом и РЖ [3, 13].

Цель работы: изучить особенности клеточного звена иммунитета у больных атрофическим гастритом тела желудка и РЖ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 250 человек в возрасте от 25 до 65 лет, которые были рандомизированы на четыре группы. *Первая группа* включала 90 практически здоровых участников исследования (46 мужчин и 44 женщины, средний возраст — 46,8 ± 2,2 года), *вторая группа* — 85 пациентов с атрофическим гастритом тела желудка умеренной степени выраженности (42 мужчины и 43 женщины, средний возраст — 47,2 ± 4,4 года), в *третью группу* вошли 25 пациентов с выраженным атрофическим гастритом тела желудка (14 мужчин и 11 женщин, средний возраст — 45,1 ± 3,1 года), *четвертую группу* составили 50 больных РЖ (33 мужчины и 17 женщин, средний возраст — 50,3 ± 3,3 года).

Исследование проводили с разрешения этического комитета ФГБНУ «НИИ медицинских проблем Севера» (НИИ МПС).

Васютин Александр Викторович — старший научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы у взрослых ФГБНУ НИИ МПС. 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г. E-mail: gastro@imprn.ru

Каспаров Эдуард Вильямович — д. м. н., профессор, временно исполняющий обязанности директора, главный врач клиники ФГБНУ НИИ МПС. 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г. E-mail: imprn@imprn.ru

Синяков Александр Александрович — младший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии ФГБНУ НИИ МПС. 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г. E-mail: gastro@imprn.ru

Смирнова Ольга Валентиновна — д. м. н., профессор, заведующая лабораторией клинической патофизиологии ФГБНУ НИИ МПС. 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г. E-mail: gastro@imprn.ru

Цуканов Владислав Владимирович — д. м. н., профессор, заведующий клиническим отделением патологии пищеварительной системы у взрослых ФГБНУ НИИ МПС. 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г. E-mail: gastro@imprn.ru

Согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, регламентирующей проведение научных исследований, каждый участник подписывал форму информированного согласия на обследование.

Всем пациентам проведены лабораторная (в частности, серологическая) диагностика атрофического гастрита тела желудка и определение показателей иммунного статуса в крови. Кровь забирали утром натощак из локтевой вены в пробирки Vacutainer с разделительным гелем и двойным активатором свертывания (кремнеземом) и в такие же пробирки с раствором гепарина натрия (5 ЕД/мл).

Лабораторную диагностику атрофического гастрита осуществляли с помощью определения уровней пепсиногенов в сыворотке крови. Лабораторные анализы проводили в клинико-диагностической лаборатории ФГБНУ НИИ МПС. С помощью ИФА в сыворотке крови определяли концентрации пепсиногена I, пепсиногена II и содержание антител к *Helicobacter pylori* на ИФА-анализаторе «СтатФакс-3000», используя тест-систему «Гастропанель» («Биохит», Финляндия). Диагноз выраженного атрофического гастрита слизистой оболочки тела желудка устанавливали при уровне пепсиногена I ниже 25 мкг/л и отношении пепсиноген I/пепсиноген II меньше 3. При концентрации пепсиногена I 25–50 мкг/л в сочетании с отношением пепсиноген I/пепсиноген II больше 3 диагностировали атрофию слизистой оболочки тела желудка слабой и средней выраженности. Здоровыми считали пациентов с отсутствием жалоб со стороны верхних отделов ЖКТ и гастроэнтерологического анамнеза, уровнем пепсиногена I в сыворотке крови выше 50 мкг/л и соотношением пепсиноген I/пепсиноген II больше 3. За положительный результат определения *H. pylori* принимали титр антител к *H. pylori* 30 ЕIU и более, за отрицательный — менее 30 ЕIU.

Для верификации лабораторно установленного диагноза выраженного атрофического гастрита пациентам выполняли фиброэзофагогастродуоденоскопию и морфологическое исследование слизистой оболочки большой и малой кривизны тела желудка с оценкой результатов по модифицированной Сиднейской классификации [6]. Диагноз РЖ устанавливали в Красноярском краевом онкологическом диспансере на основании комплексного инструментального и морфологического обследования.

Состояние клеточного звена иммунитета оценивали методом непрямой иммунофлюоресценции с помощью моноклональных антител («Сорбент», Москва) в плазме крови [4], исследование проводили в лаборатории клинической патофизиологии ФГБНУ НИИ МПС.

Для статистической обработки данных применяли пакет прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft, США). Анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения проводили с использованием критерия Шапиро — Уилка. При описании выборки вычисляли медиану (Me) и интерквартильный размах процентилей (C₂₅–C₇₅). Статистическую значимость различий между показателями независимых выборок оценивали по критерию Манна — Уитни (p < 0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Частота инфекции *H. pylori* в обследованных группах существенно не различалась и в группе контроля составила 77,8%, у пациентов с атрофическим гастритом тела желудка умеренной выраженности — 82,3% (p = 0,45 в сравнении с контрольной группой), у пациентов с выраженным атрофическим гастритом тела желудка — 88,0% (p = 0,26) и у больных РЖ — 86% (p = 0,24).

В сравнении с участниками контрольной группы у больных РЖ было статистически значимо (p < 0,001) увеличено абсолютное количество лейкоцитов (11,64 × 10⁹/л) и лимфоцитов (5,0 × 10⁹/л), что, с нашей точки зрения, могло являться следствием компенсаторной реакции, направленной на активизацию иммунных процессов.

По сравнению со здоровыми участниками исследования у больных РЖ была резко снижена доля CD3⁺-клеток (зрелых Т-лимфоцитов) и CD4⁺-клеток (Th), что служит проявлением выраженного вторичного иммунодефицита. Важно, что аналогичную закономерность наблюдали и при сопоставлении больных выраженным атрофическим гастритом тела желудка с контрольной группой (табл. 1). Это в определенной степени объясняет, почему у пациентов с гастритом возможен прогресс заболевания, приводящий к возникновению новообразований. Интересно, что абсолютное количество CD3⁺- и CD4⁺-клеток у больных РЖ не настолько катастрофически низко, как их относительное содержание (см. табл. 1). Как указано выше, лейкоцитоз и лимфоцитоз у больных РЖ позво-

Таблица 1

Содержание CD3⁺- и CD4⁺-клеток в плазме крови больных атрофическим гастритом и раком желудка

Группы	CD3 ⁺ , %		CD3 ⁺ , × 10 ⁹ /л		CD4 ⁺ , %		CD4 ⁺ , × 10 ⁹ /л	
	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅
Группа контроля (n = 90) (1)	66,0	60,0–72,0	1,43	0,93–2,41	45,0	34,0–48,75	0,97	0,52–1,63
Пациенты с атрофическим гастритом умеренной степени выраженности (n = 85) (2)	28,0	21,0–34,0	0,58	0,21–0,59	30,0	25,0–34,0	0,68	0,63–0,77
Пациенты с выраженным атрофическим гастритом (n = 25) (3)	31,0	28,0–40,0	0,40	0,54–0,82	30,0	20,0–36,0	0,39	0,25–0,56
Больные раком желудка (n = 50) (4)	16,0	13,0–23,0	0,80	0,50–1,67	12,0	9,0–18,0	0,60	0,34–1,30
P	p ₁₋₂ < 0,001 p ₁₋₃ < 0,001 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₃ = 0,097 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ = 0,022		p ₁₋₂ < 0,001 p ₁₋₃ < 0,001 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₃ = 0,200 p ₂₋₄ = 0,045 p ₃₋₄ = 0,550		p ₁₋₂ < 0,001 p ₁₋₃ < 0,001 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₃ = 0,900 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ = 0,014		p ₁₋₂ < 0,001 p ₁₋₃ = 0,002 p ₁₋₄ = 0,120 p ₂₋₃ = 0,020 p ₂₋₄ = 0,780 p ₃₋₄ = 0,060	

Примечание. Здесь и в таблице 2 статистическая значимость различий показателей вычислена при помощи критерия Манна — Уитни.

Содержание CD8⁺- и CD16⁺-клеток в плазме крови больных атрофическим гастритом и раком желудка

Группы	CD8 ⁺ , %		CD8 ⁺ , × 10 ⁹ /л		CD16 ⁺ , %		CD16 ⁺ , × 10 ⁹ /л	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Группа контроля (n = 90) (1)	27,0	20,0–33,75	0,58	0,31–1,13	20,0	17,0–23,0	0,43	0,26–0,77
Пациенты с атрофическим гастритом умеренной степени выраженности (n = 85) (2)	28,0	21,0–32,0	0,47	0,35–0,56	24,0	16,0–26,0	0,41	0,24–0,48
Пациенты с выраженным атрофическим гастритом (n = 25) (3)	24,0	16,0–36,0	0,46	0,41–0,75	19,0	8,0–26,0	0,24	0,10–1,00
Больные раком желудка (n = 50) (4)	13,0	10,0–22,0	0,65	0,54–0,73	14,0	5,0–19,0	0,70	0,19–1,38
P	p ₁₋₂ = 0,370 p ₁₋₃ = 0,400 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₃ = 0,020 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ = 0,011		p ₁₋₂ = 0,010 p ₁₋₃ = 0,040 p ₁₋₄ = 0,600 p ₂₋₃ = 0,120 p ₂₋₄ = 0,050 p ₃₋₄ = 0,067		p ₁₋₂ = 0,010 p ₁₋₃ = 0,800 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₃ = 0,230 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ = 0,014		p ₁₋₂ = 0,390 p ₁₋₃ = 0,030 p ₁₋₄ = 0,060 p ₂₋₃ = 0,080 p ₂₋₄ = 0,043 p ₃₋₄ = 0,020	

ляют в некоторой степени компенсировать резкие изменения в соотношении фракций лимфоцитов.

Аналогичные закономерности обнаружены при исследовании CD8⁺- (Т-киллеров) и CD16⁺-клеток (NK). У больных РЖ относительное содержание CD8⁺- и CD16⁺-клеток было резко снижено по сравнению со здоровыми людьми. Однако вследствие общего лейкоцитоза и лимфоцитоза абсолютное содержание CD8⁺- и CD16⁺-клеток сравнительно велико (табл. 2). Примечательно, что у больных выраженным атрофическим гастритом тела желудка абсолютное количество CD8⁺- и CD16⁺-клеток было статистически значимо ниже, чем в контрольной группе (см. табл. 2).

При исследовании показателей иммунного статуса важен иммунорегуляторный коэффициент, определяемый по соотношению клеток CD4⁺/CD8⁺ (Th/Т-киллеры). В контрольной группе он составил 1,67; у пациентов с выраженным атрофическим гастритом тела желудка — 1,09 (p₁₋₂ = 0,02), а у больных РЖ — 0,9 (p₁₋₃ < 0,001). Привлекает внимание существенное снижение этого показателя у пациентов с атрофическим гастритом по сравнению со здоровыми участниками.

В настоящее время ведущей концепцией патогенеза рака желудка признана парадигма P. Correa: инфекция

H. pylori вызывает развитие атрофического гастрита, который, в свою очередь, определяет возникновение и прогрессирование метаплазии, дисплазии и в конечном счете рака [5]. Сравнительно недавно показана возможность рекрутирования костномозговых стволовых клеток с их последующим встраиванием в дефекты эпителия желудка [10]. Учитывая повышенную мутагенность стволовых клеток, при определенных обстоятельствах у некоторых пациентов значительно повышается вероятность клонального развития кишечной метаплазии и дисплазии в эпителии желудка [9]. Совершенно очевидно, что иммунная дисрегуляция имеет важное значение в процессе онкогенеза. По нашему мнению, обнаруженные закономерности полезны для развития научных исследований и совершенствования диагностического процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с выраженным атрофическим гастритом тела желудка и раком желудка зарегистрированы однонаправленные изменения иммунного статуса, проявляющиеся в развитии вторичного иммунодефицита и выраженном снижении иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺).

ЛИТЕРАТУРА

1. Агеева Е. С., Штыгашева О. В., Рязанцева Н. В., Цуканов В. В. Молекулярно-генетические факторы, влияющие на исход инфицирования *Helicobacter pylori* у жителей Республики Хакасия // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2010. № 4. С. 25–30.
2. Цуканов В. В., Амельчугова О. С., Каспаров Э. В., Буторин Н. Н. и др. Роль эрадикации *Helicobacter pylori* в профилактике рака желудка // Терапевт. арх. 2014. № 8. С. 124–127.
3. Цуканов В. В., Третьякова О. В., Амельчугова О. С., Каспаров Э. В. и др. Распространенность атрофического гастрита тела желудка у населения г. Красноярск старше 45 лет // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2012. № 4. С. 27–31.
4. Coons A. H., Creech H. J., Jones R. N., Berliner E. The demonstration of pneumococcal antigen in tissues by the use of fluorescent antibody // J. Immunol. 1942. Vol. 45. N 3. P. 159–170.
5. Correa P. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis // Am. J. Surg. Pathol. 1995. Vol. 19. N 1. P. 37–43.
6. Dixon M. F., Genta R. M., Yardley J. H., Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the

7. Giraldo N. A., Becht E., Vano Y., Sautes-Fridman C. The immune response in cancer: from immunology to pathology to immunotherapy // Virchows Arch. 2015. Vol. 467. N 2. P. 127–135.
8. Graham D. Y. *Helicobacter pylori* update: gastric cancer, reliable therapy, and possible benefits // Gastroenterology. 2015. Vol. 148. N 4. P. 719–731.
9. Gutierrez-Gonzalez L., Graham T. A., Rodriguez-Justo M., Leedham S. J. et al. The clonal origins of dysplasia from intestinal metaplasia in the human stomach // Gastroenterology. 2011. Vol. 140. N 4. P. 1251–1260.
10. Hoffmann W. Current status on stem cells and cancers of the gastric epithelium // Int. J. Mol. Sci. 2015. Vol. 16. N 8. P. 19153–19169.
11. Siska P. J., Rathmell J. C. T cell metabolic fitness in antitumor immunity // Trends Immunol. 2015. Vol. 36. N 4. P. 257–264.
12. Sugano K., Tack J., Kuipers E. J., Graham D. Y. et al. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis // Gut. 2015. Vol. 64. N 9. P. 1353–1367.
13. Tsukanov V. V., Butorin N. N., Maady A. S., Shtygasheva O. V. et al. *Helicobacter pylori* infection, intestinal metaplasia, and gastric cancer risk in Eastern Siberia // Helicobacter. 2011. Vol. 16. N 2. P. 107–112. [D]

Библиографическая ссылка:

Синяков А. А., Смирнова О. В., Цуканов В. В., Каспаров Э. В. и др. Показатели клеточного иммунитета в крови больных атрофическим гастритом и раком желудка // Доктор.Ру. Гастроэнтерология. 2016. № 1 (118). С. 24–26.