

На правах рукописи

САРСЕНБАЕВА
Айман Силкановна

ГЕНОТИПЫ HELICOBACTER PYLORI И КЛИНИКО- ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ АССОЦИИРОВАННЫХ С НИМИ ЗАБОЛЕВАНИЙ

14.00.05 – внутренние болезни

14.00.36 – аллергология и иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Челябинск, 2007

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия дополнительного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию и в Институте иммунологии и физиологии УрО РАН

Научные консультанты: доктор медицинских наук, профессор

Игнатова Галина Львовна

доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ

Теплова Светлана Николаевна

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор

Лазебник Леонид Борисович

доктор медицинских наук, профессор

Синицын Сергей Петрович

доктор медицинских наук

Гусев Евгений Юрьевич

Ведущая организация: Российский государственный медицинский университет (г. Москва)

Защита состоится « ____ » _____ 2007 г. в ____ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208. 117-02 при ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (454092 г. Челябинск, ул. Воровского, 64).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Автореферат разослан « ____ » _____ 2007 г.

Ученый секретарь Диссертационного Совета,
доктор медицинских наук, профессор

Л.В. Кривохижина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Инфекция *Helicobacter pylori* представляет собой одну из наиболее распространенных хронических инфекций человека. Предполагается, что *Helicobacter pylori* инфицировано более 60 % населения земного шара (Исаков В. А., Домарадский И. В., 2003), а инфицированность взрослого населения России составляет 70 - 92% (Ивашкин В. Т. с соавт., 2006, Цодиков Г. В. с соавт., 2006). Несмотря на столь значительные масштабы распространения *Helicobacter pylori*, лишь у небольшой части инфицированных рано или поздно выявляется та или иная клинически манифестная форма патологии. Подавляющее большинство инфицированных остаются бессимптомными носителями, и у них не формируется каких – либо серьезных последствий длительной персистенции бактерий в желудке (Говорун В.М. с соавт., 2002).

На сегодня основной проблемой геликобактериологии является расшифровка механизмов, объясняющих, почему один и тот же биологический вид *H. pylori* вызывает у одних лиц развитие антрального хронического гастрита, у других – язвенной болезни, а у третьих – приводит к появлению осложнений (Лапина Т. Л., 1998).

Для клинической медицины важно понимать закономерности и особенности формирования каждого типа патологии, выделять неблагоприятные и благоприятные факторы, влияющие на ее течение, их приоритетность, анализировать доступность и эффективность разных методов диагностики, лечения и профилактики заболеваний (Щербинина М.Б., 2005).

Большинство авторов высказывает мнение о ведущем значении степени обсемененности *Helicobacter pylori* слизистой оболочки желудка, внутривидового разнообразия штаммов *H. pylori*, генетической предрасположенности и характера иммунного ответа хозяина, длительности заболевания (Корниенко Е.А. с соавт., 2003, Hunt R.H. et al., 2001).

Согласно оригинальной концепции взаимоотношений организма человека и *Helicobacter pylori*-инфекции, развитие различных форм гастродуоденальной патологии, включая язвенную болезнь двенадцатиперстной кишки, зависит не только и не столько от колонизации слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки цитотоксичными (мутантными) штаммами *Helicobacter pylori*, экспрессирующими маркеры вирулентности, сколько от резистентности самого макроорганизма. Полагают, что патогенные штаммы *H. pylori* способны реализовать свой цитотоксический потенциал только на фоне вторично развившихся иммунодефицитных состояний (Прокопенко В.Д. с соавт., 2001, Циммерман Я.С., Михалева Е.Н., 2003).

Обычно инфекция *Helicobacter pylori* протекает хронически, на фоне изменения реактивности, как местных защитных механизмов слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, так и системного иммунитета (Ющук Н.Д. с соавт., 2002). Изучение характера иммунологических сдвигов у больных с язвенной болезнью, позволяет определить возможности дифференцированного подхода к коррекции воспалительного процесса, а также дать ценные результаты для прогноза заболевания (Чуков С.З., Пасечников В.Д., 2001, Ильина Е.А., 2004).

Большинство исследователей предполагает, что иммунные механизмы являются ключевыми в формировании того или иного варианта гастродуоденальной патологии, предопределяющими

характер тканевых изменений (Ананченко В.Г. с соавт., 2000, Иваненко Т.В. с соавт., 2001). Изменения со стороны гуморального и клеточного звеньев иммунитета могут способствовать переходу заболевания в неблагоприятные или осложненные варианты течения (Кондрашина Э.А. с соавт., 2002, Кузнецов В.П., Беляев Д.Л., 2002). Однако точки зрения по этому вопросу противоречивы.

Из-за специфических свойств геликобактера активация иммунных механизмов не всегда адекватна: помимо ограничения роста патогена она может вызывать по механизму некроза и апоптоза гибель собственных клеток, что нарушает течение пролиферативной фазы воспаления и процессы репаративной регенерации слизистой оболочки, и требует специального анализа (Ющук Н.Д. с соавт., 2001). Влияние *Helicobacter pylori* на клеточное обновление в желудке еще недостаточно изучено и представляет большой интерес для исследователей (Ивашкин В.Т. с соавт., 2002).

В 5-10% случаев возможны рецидивы язвенного процесса, которые, как правило, являются следствием реинфицирования (Цимбалистов А.В. с соавт., 1999, Пасечников В.Д., 2002). В этой связи интерес представляет исследование механизмов и очагов персистенции возбудителя в организме человека вне слизистой оболочки желудка.

Чрезвычайная изменчивость *Helicobacter pylori* и способность к рекомбинации между циркулирующими штаммами лежит в основе растущей устойчивости микроорганизмов к антибиотикам, что определяет необходимость организации эпидемиологического мониторинга *Helicobacter pylori* инфекции, анализа генотипических вариантов, выделяемых в разных регионах мира, поиска новых лекарственных препаратов и схем лечения с целью повышения эффективности консервативной терапии *Helicobacter pylori* - ассоциированных заболеваний.

Одним из таких направлений улучшения результатов лечения является применение иммуномодуляторов в лечении эрозивно – язвенных поражений гастродуоденальной зоны, приобретающей сегодня принципиальное значение в связи с выраженной способностью *Helicobacter pylori* к уходу от контроля специфических механизмов иммунитета и к инициации иммунозависимых форм воспаления (Лазебник Л.Б. с соавт., 2003). Большинство исследований в этой области выполнено с применением системных иммуномодуляторов. Практически неизученными остаются эффекты топической иммунокоррекции, на уровне поражаемых *Helicobacter pylori* тканей.

Все вышесказанное явилось основанием для проведения нашего исследования.

Цель исследования: изучить генотипические особенности *Helicobacter pylori* и роль других факторов риска в развитии разных клинко-иммунологических вариантов заболеваний гастродуоденальной зоны для объективизации их диагностики и оптимизации лечения.

Задачи исследования:

1. Определить спектр генотипов *Helicobacter pylori* в биоптатах слизистой оболочки желудка и оценить роль экзогенных и эндогенных факторов риска в формировании хронического гастрита и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *Helicobacter pylori*.

2. Оценить чувствительность, специфичность и общую точность метода полимеразной цепной реакции, ее место среди современных методов диагностики *Helicobacter pylori* у исследуемой группы больных.

3. Выявить клинические особенности различных форм хронического гастрита и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, ассоциированных с *Helicobacter pylori*.

4. Оценить процессы пролиферации, экспрессии регуляторных белков апоптоза в эпителиоцитах слизистой оболочки желудка и в лимфоцитах крови у больных при антродуоденальной экспансии *Helicobacter pylori* инфекции.

5. Исследовать особенности системного клеточного, гуморального и секреторного иммунитета у больных хроническим гастритом и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, ассоциированных с *Helicobacter pylori*.

6. Обосновать эффективность применения и точки приложения терапевтического действия топического иммуномодулятора имудон у больных с *Helicobacter pylori* - ассоциированными заболеваниями гастродуоденальной зоны.

Научная новизна

Впервые проведен анализ генотипов *Helicobacter pylori*, персистирующих в слизистой оболочке желудка, у больных с разными клиническими формами инфекции. Определена диагностическая значимость полимеразной цепной реакции и ее место среди других современных методов диагностики данной инфекции.

Обоснована перспективность метода полимеразной цепной реакции для выявления очагов персистенции *Helicobacter pylori* в слизистой оболочке ротовой полости для контроля эффективности эрадикационной терапии.

Новыми являются данные о характере изменения процессов пролиферации, экспрессии ядерных белков–регуляторов апоптоза в слизистой оболочке антрального отдела желудка при разных генотипах *Helicobacter pylori*, а также при разных клинических формах заболевания с максимально выраженным нарушением при осложненном течении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки.

Впервые проведена интегральная оценка клеточного, гуморального компартов иммунной системы, показателей секреторного иммунитета слюны, базового уровня провоспалительных цитокинов у больных с клиническими вариантами геликобактерной инфекции и установлены закономерности изменений в каждом из отделов иммунной системы. Определены особенности процессов позитивной и негативной активации, апоптоза лимфоцитов, экспрессии регуляторных белков Bcl-2 и p53 при инфицировании вирулентными и неvirulentными штаммами *Helicobacter pylori*.

Выявление высокого провоспалительного потенциала на уровне секреторного иммунитета и в ряде случаев очагов персистенции *Helicobacter pylori* в слизистой ротовой полости при геликобактерной инфекции определяет целесообразность включения в программу комплексной терапии хронического

гастрита и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки топического иммуномодулятора (имудона) с целью купирования воспалительного процесса и повышения протективных свойств слюны.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Особенности клинического течения заболеваний гастродуоденальной зоны, ассоциированных с *Helicobacter pylori*, зависят от генотипических свойств микроорганизма и характера иммунного ответа макроорганизма.

2. Антродуоденальная экспансия *Helicobacter pylori* инфекции характеризуется колонизацией слизистой оболочки желудка авирулентными генотипами возбудителя при хроническом гастрите и вирулентными - при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки с соответствующим нарастанием активности воспаления, усилением нарушения процессов репаративной регенерации слизистой оболочки желудка, наиболее выраженных при выделении вирулентных генотипов возбудителя.

3. Клинические проявления *Helicobacter pylori* инфекции гастродуоденальной зоны в значительной степени определяются особенностями нарушений в клеточном и гуморальном компартментах иммунной системы, снижением барьерной функции секреторного иммунитета, повышенной продукцией провоспалительных цитокинов, достигающих максимума при инфицировании вирулентными генотипами микроорганизма.

4. Оптимизация диагностики *Helicobacter pylori*-ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны должна достигаться не только обнаружением возбудителя в слизистой оболочке желудка, но и определением ДНК *Helicobacter pylori* в зубо-десневом кармане как дополнительном очаге инфекции.

5. Перспективным направлением улучшения результатов лечения *Helicobacter pylori*-ассоциированных заболеваний является стимуляция мукозо-ассоциированного компартмента иммунной системы.

Теоретическое значение работы состоит в уточнении патогенеза прогрессии *Helicobacter pylori*-инфекции в клинически более тяжелые формы, зависящие, с одной стороны, от вирулентных свойств микробных этиологических агентов, а с другой, от состояния макроорганизма его реактивности и противоинфекционной резистентности.

Практическая значимость работы заключается в определении спектра генотипов *Helicobacter pylori*. Положено начало для проведения постоянного мониторинга циркулирующих генотипических вариантов инфекции.

Важным для определения эффективности эрадикационной терапии является изучение содержимого зубо-десневого кармана для обнаружения генетического материала *Helicobacter pylori*.

На основе эконометрического анализа установлено универсальное значение для развития различных клинических вариантов *Helicobacter pylori* - инфекции следующих факторов: депрессии, аффективного типа восприятия боли, дисбаланса субклассов иммуноглобулинов G с преобладанием G4, экспрессии белка p53 в поверхностном эпителии слизистой оболочки желудка, количества

лимфоцитов в системном кровотоке, нарушений нитроксидазной регуляции, что определяет основные направления первичной и вторичной профилактики.

Разработана и предложена схема применения топического иммуномодулятора имудон в комплексном лечении, что позволило оптимизировать терапию хронического гастрита и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, ассоциированных с *Helicobacter pylori*.

Реализация результатов исследования и апробация работы:

Результаты исследования внедрены в лечебных учреждениях г. Челябинска: гастроэнтерологическом отделении Челябинской областной клинической больницы, межрайонном гастроэнтерологическом центре при городской клинической больнице №8, гастроэнтерологическом отделении городской клинической больницы №6, терапевтическом отделении городской клинической больницы №4, городской поликлинике №7, городской поликлинике №8.

Теоретические и практические рекомендации по материалам диссертации включены в программу обучения врачей гастроэнтерологов, терапевтов, врачей общей практики, аллергологов - иммунологов на кафедре терапии, фтизиопульмонологии и профпатологии; терапии, функциональной диагностики, профилактической и семейной медицины; терапии, клинической фармакологии и эндокринологии ГОУ ДПО «Уральская государственная медицинская академия дополнительного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», в программу обучения студентов на кафедре иммунологии и аллергологии ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию». Разработаны и внедрены учебные пособия для врачей гастроэнтерологов, терапевтов, врачей общей практики: «Методы диагностики инфекции *Helicobacter pylori*», «Современные подходы к эрадикации *Helicobacter pylori* при заболеваниях желудка и двенадцатиперстной кишки».

Основные положения и результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на IV, V, VI съездах научного общества гастроэнтерологов России (Москва, 2004 г., 2005 г., 2006 г.), заседании городского общества гастроэнтерологов (Челябинск, 2005 г., 2006 г.), на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки» (Сочи, 2006 г.), областной конференции по актуальным вопросам аллергологии и иммунологии (Челябинск, 2006 г.).

По материалам диссертации опубликована 31 работа, из них 5 в ведущих рецензируемых научных журналах, монография «Роль микробных агентов и макроорганизма в развитии *Helicobacter pylori* инфекции».

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 294 страницах, иллюстрирована 80 таблицами, 18 рисунками.

Состоит из введения, обзора литературы, раздела собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 432 источника (194 – отечественных и 238 – зарубежных).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Для решения поставленных цели и задач было проведено комплексное клинико-лабораторное обследование группы больных - 441 человек в Муниципальном учреждении здравоохранения Городская Поликлиника № 8 в период с 2002 г. по 2005 г. Исследование больных проводилось при их согласии с соблюдением этических норм в соответствии с Хельсинкской декларацией (2003 г.). Структура выборки: 103 больных с хроническим неатрофическим гастритом (ХГН), 110 больных с хроническим атрофическим гастритом, 123 больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки неосложненного течения (ЯБН), 105 больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, осложненной кровотечением (ЯБО) и 40 мужчин из группы контроля.

В нашем исследовании нозологические единицы соответствовали следующим рубрикам

Международной классификации болезней, травм и причин смерти X (1995) пересмотра: хронический поверхностный гастрит (К 29.3), хронический атрофический гастрит (К 29.4), язва двенадцатиперстной кишки (К. 26), в том числе, осложненная кровотечением.

В работе использована международная классификация гастрита (Хьюстон, 1994), классификация хронического дуоденита по М.Р. Конореву с соавт. (2003), классификация диспепсии по А. А. Шептулину (1999), рабочая классификация язвенных поражений желудка и двенадцатиперстной кишки Я.С. Циммермана (1992), классификация источника кровотечения по J. A. Forrest (1974), классификация степени тяжести кровотечения А. И. Горбашко (1974).

Первую группу контроля составили 40 практически здоровых некурящих *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) - негативных мужчин. Критерием для отбора в контрольную группу служило отсутствие каких-либо жалоб и заболеваний желудочно-кишечного тракта в анамнезе, отрицательный тест на *H. pylori* двумя неназавивными методами – уреазным дыхательным и иммунологическим.

Критерии включения в исследование:

- *H. pylori* позитивные больные;
- мужской пол
- возраст 20-50 лет
- клинико-морфологические признаки обострения хронического гастрита антрального отдела желудка;
- хроническое течение язвенной болезни двенадцатиперстной кишки;
- наличие активных дуоденальных язв, в том числе, осложненных кровотечением, во время текущего обострения или в недавнем прошлом (в течение предыдущего месяца);
- пациенты, не получавшие на предшествующих этапах лечения (в течение последнего года) препараты иммуномодулирующего действия и вакцины;
- наличие согласия пациентов на участие в исследовании.

Критерии исключения из исследования:

- острый гастрит;
- острая язва двенадцатиперстной кишки;

- симптоматические язвы двенадцатиперстной кишки;
- дисплазия слизистой оболочки желудка;
- обострение сопутствующих хронических заболеваний;
- онкопатология любой локализации;
- острые воспалительные процессы слизистой оболочки полости рта;
- повышенная чувствительность к любому из препаратов, используемых в эрадикационной схеме и к препарату имудон.

Распределение обследуемых лиц по группам, средний возраст пациентов и длительность заболевания представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распределение обследуемых больных по возрасту и длительности заболевания

п / п	Изучаемые группы	Средний возраст, годы	Средняя длительность заболевания, лет
		M ±m	M ±m
1	Хронический неатрофический гастрит (ХГН)	37,8±2,54	11,2±2,68
2	Хронический атрофический гастрит (ХГА)	39,7±3,81	11,7±1,23
3	Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки неосложненного течения (ЯБН)	41,8 ±2,27	9,81±0,93
4	Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки осложненного течения (ЯБО)	39,3±1,33	12,1±1,41
5	Контроль	38,7±3,55	-

Группы больных были однородны по возрасту и длительности заболевания.

С целью оценки соматического фона и его возможной роли в формировании гастродуоденальной патологии было проведено изучение сопутствующей патологии у обследуемого контингента (таблица 2).

Таблица 2

Характеристика сопутствующей патологии у больных

Болезни	ХГН, % (n=10 3)	ХГА, % (n=1 10)	ЯБН, % (n=12 3)	ЯБО,% (n=105)	p
органов дыхания	23,3	21,8	21,1	20,0	>0,05
сердечно- сосудистой системы	14,5	16,3	13,8	16,1	>0,05
опорно-	2,9	3,6	3,2	1,9	>0,05

двигательного аппарата					
эндокринной системы	0	1,8	2,4	2,8	>0,05
мочевыделительной системы	1,9	2,7	1,6	4,8	>0,05
органов пищеварения	51,4	44,5	48,7	55,2	>0,05

Достоверных различий в частоте выявления разных видов сопутствующей патологии у больных с изучаемыми вариантами *H. pylori*-ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны не выявлено. Таким образом, обследуемые группы больных были сопоставимы по полу, возрасту, средней длительности заболевания и по сопутствующей патологии.

Больным проводилось комплексное клиничко - лабораторное и инструментальное исследование в соответствии со «Стандартами (протоколами) диагностики и лечения органов пищеварения», утвержденными приказом МЗ РФ №125 от 17.04. 1998.

Общеклиническое обследование дополнялось оценкой болевого синдрома с использованием Мак - Гиловского болевого опросника (Melzack R., Torgerson W., 1971), оценкой психосоматического статуса с применением психодиагностических методик. Степень тревожности оценивали по тесту Спилбергера в модификации Ю.Л. Ханина (1976) и личностной шкале проявлений тревоги Тейлора (1953). Для объективизации оценки личностных свойств использовался сокращенный вариант Миннесотского Многофакторного Личностного Опросника – стандартизованный многофакторный метод исследования личности (СМОЛ), адаптированный В.П. Зайцевым (1981).

Эзофагогастродуоденоскопию проводили аппаратом типа "Olympus" (Япония) всем больным на второй – третий день после обращения к врачу или в экстренном порядке в ургентных ситуациях. Состояние кислотообразующей функции желудка исследовалось методом интрагастральной рН-метрии с применением трехоливных зондов с сурьмяно-каломельными электродами (Линар Е.Ю. с соавт., 1974) на аппарате ацидогастрометр АГМ – 1.

Диагностика инфекции *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) проводилась четырьмя методами: морфологическим, уреазным дыхательным (Корниенко Е.А., Милейко В.Е., 1996), иммунологическим методом и методом полимеразной цепной реакции.

Биопсия проводилась в 3 точках из антрального отдела желудка на расстоянии 2-3 см от привратника по большой и малой кривизне и из слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки в периульцерозной зоне. Для выявления *H. pylori* тканевые срезы окрашивались 0,1% водным раствором метиленового голубого. Степень обсемененности *H. pylori* оценивали согласно критериям Аруин Л.И. с соавт. (1993).

ДНК *H. pylori* в биоптатах слизистой оболочки антрального отдела желудка определяли наборами реагентов «Хеликопол» НПФ «Литех» (Россия), состоящих из комплекта для детекции серии 03/39/03, комплекта для выделения ДНК серии 07/28.03. Для генотипирования *H. pylori* использовали

наборы со смесью праймеров CagA, VacA s1/s2, VacA m1, VacA m2, IceA1, IceA2, BabA с соответствующими контрольными ДНК CagA, VacA s1/s2 (K₁), VacA m1 (K₂), VacA m2 (K₃), IceA1 (K₁), IceA2 (K₂), BabA.

Аmplификацию проводили в программируемом прогретом до +94°C термостате для проведения ПЦР – анализа ТПЧ-ПЦР-01- «Терцик» производства ЗАО НПФ ДНК-технология, Москва. Размер ампликонов составил 10⁸ молекул. Продукты амплификации идентифицировали в 1,5% агарозном геле в присутствии бромистого этидия со смесями праймеров для CagA, VacA, IceA, BabA типов и субтипов *H. pylori*. Для электрофореза использовали камеру «SE-2» производства ООО «Биоклон» № 3901, Москва. Анализ регистрировали после электрофоретического разделения продуктов амплификации в направлении от катода (-) к аноду (+). Окончательную регистрацию проводили в ультрафиолетовом трансиллюминаторе с длиной волны 310 нм.

Для изучения *H. pylori* – статуса полости рта методом полимеразной цепной реакции использовали набор для выделения ДНК из зубодесневого налета Хеликопол II производства НПФ «Литех». В качестве второго метода диагностики *H. pylori* в полости рта был использован уреазный дыхательный тест. Параллельно у пациентов оценивалась интенсивность поражения зубов кариесом с определением индекса КПУ, состоящего из суммы К – кариозных, П - леченых (пломбированных) и У - удаленных зубов.

Оценку морфологических изменений слизистой оболочки желудка в антральном отделе и в периульцерозной зоне проводили по визуальной – аналоговой шкале (Dixon M.F. et al., 1994).

Состав и плотность клеточного инфильтрата в биоптате слизистой оболочки желудка определяли в 1 мм³ гистологического среза (1 мм = 1000 мкм).

Определение экспрессии белков p53, Ki67 в гистологических срезах слизистой оболочки антрального отдела желудка проводилось иммуногистохимическим методом с применением специфических антител и системы мечения Immu-markTM (ICN). Вторую группу контроля представляли 10 *H. pylori* – негативных мужчин с поверхностным гастритом.

Для иммунологического исследования производили забор крови у больных натошак из кубитальной вены на второй день с момента обращения или на 7 день после операции в случае экстренного оперативного лечения. Забор слюны для иммунологического исследования у больных проводился утром натошак в одно и то же время до начала лечения и через 4 недели после лечения.

Иммунологическое исследование включало:

1. Оценку клеточного иммунитета с определением:

- популяционного и субпопуляционного спектра лимфоцитов крови методом CD-типирования в реакции непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами серии ИКО производства НПО " Препарат", г. Н. Новгород;
- числа лимфоцитов, экспрессирующих маркеры позитивной и негативной активации (CD25+, CD95+);
- числа лимфоцитов с морфологическими признаками апоптоза в окраске Hoechst 33342 (Boehringer Mannheim);

- цитоплазматического продукта гена bcl-2 на проточном цитофлуориметре.

2. Изучение гуморального иммунитета с определением:

- количества сывороточных IgA, IgM, IgG по Манчини (1965);
- количества субклассов иммуноглобулинов G в сыворотке методом иммуноферментного анализа с тест-системами фирмы Вектор-Бест (Новосибирск);
- количества циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) по В. Гашковой с соавт. (1978);
- общей гемолитической активности комплемента (CH50) по Л.С. Резниковой (1967)
- активности компонентов комплемента C1, C2, C3, C4, C5 методом гемолитического титрования по А.П. Красильникову (1984);
- исследование специфических антител к *H. pylori* проводили диагностическими наборами «Bcm Diagnostik Systems Laboratories INC-05-10 Helicobacter pylori IgG ELISA».

3. Определение уровня TNF α , IL-6, IL-8 в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем ТОО "Цитокин" (Москва) и учетом реакции на планшетном фотометре «Multiscan plus» при длине волны 450 нм.

4. Анализ уровня оксида азота в сыворотке крови и супернатанте культуры моноцитов по концентрации его стабильных конечных метаболитов с помощью модифицированной реакции Гриса (Scuiz K. et al., 1999; Коробейникова Э.Н., 2002).

5. Изучение показателей секреторного иммунитета слюны с определением:

- уровня белка, муцина биуретовым методом;
- sIgA и уровня лактоферрина, TNF α , IL-6, IL-8 иммуноферментным методом;
- общей активности системы комплемента и компонентов комплемента C1-C5;

Методы лечения

Всем больным, включенным в исследование, назначалась медикаментозная эрадикационная терапия согласно решений согласительного совещания EHPSG в Маастрихте (Нидерланды), сентябрь 2000 г. Кроме базисной терапии часть больных получали дополнительно имудон. Для оценки эффективности препарата имудон распределение больных по группам (основная группа - 45 человек, получавших эрадикационную терапию плюс имудон и группа сравнения - 52 пациента, получавших эрадикационную терапию плюс в качестве «плацебо» глюкозу), проводилось методом случайных чисел. Исследование носило характер рандомизированного, «простого слепого», в форме «параллельного контроля». Препараты глюкоза и имудон назначались местно для рассасывания в полости рта по две таблетки четыре раза в день в течение 10 дней.

Контроль эффективности лечения проводился через 4 недели после окончания лечения путем оценки клиническо – эндоскопических симптомов и результатов двух тестов на выявление *H. pylori*.

Отдаленные результаты эффективности лечения оценивались через год по частоте рецидивов в сравниваемых группах.

Статистическая компьютерная обработка проводилась с использованием пакетов прикладных программ Statistica for Windows 6.0. Результаты исследований представлены в таблицах в виде среднего арифметического (M) \pm стандартная ошибка среднего (m) или медианами и квартилями. Достоверность различий оценивали непараметрическими методами Манна – Уитни (U), Пирсона (χ^2), Фишера, Вилкоксона. Анализ повторных измерений качественных признаков проводился по критерию Мак – Нимара. Достоверными считали различия при $p < 0,05$. Для оценки силы и направленности взаимосвязи между количественными признаками проводили вычисление коэффициента корреляции Спирмена.

Роль факторов риска в развитии тяжелых форм *H. pylori*-ассоциированных заболеваний (атрофического гастрита, язвенной болезни двенадцатиперстной кишки и ее осложнений) оценивали по показателю отношения шансов (ОШ), определяемому как шанс наличия воздействия в основной группе, деленный на шанс наличия воздействия в группе сравнения (Флетчер Р. с соавт., 1998). Для создания вероятностной модели формирования клинических вариантов геликобактерной инфекции при антродуоденальной экспансии был использован метод эконометрического анализа (Магнус Я.Р. с соавт., 2001).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ факторов риска развития *H. pylori*-ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны

На первом этапе нами был проведен анализ факторов риска развития хронического атрофического гастрита антрального отдела желудка, язвенной болезни двенадцатиперстной кишки неосложненного и осложненного течения.

У больных с хроническим неатрофическим и атрофическим гастритом инфекция

H. pylori выявлена морфологическим способом в 100% случаев. Средний балл степени обсемененности слизистой оболочки желудка *H. pylori* у больных с хроническим неатрофическим гастритом составил $2,1 \pm 0,08$, при хроническом атрофическом гастрите - $1,9 \pm 0,05$ ($p < 0,05$). Более низкая плотность микробной колонизации при атрофическом гастрите может быть следствием дефицита образования слизи, под слоем которой формируется первичный биотоп микроорганизма (Кононов А. В. соавт., 2005). В обеих группах больных преобладали случаи умеренной степени обсемененности (51,4% и 46,3 %). В группе больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки неосложненного течения инфекция *H. pylori* выявлена в 93,3% случаев, средний балл обсемененности слизистой оболочки желудка составил $2,0 \pm 0,1$. При тяжелом течении микроорганизм выявлен в 100% случаев, средний балл обсемененности составил $2,8 \pm 0,05$, у этих пациентов достоверно преобладали случаи с высокой степенью обсемененности *H. pylori* – 79,4% (RR=6,6; $\chi^2=26,9$; $p < 0,001$). У больных с доброкачественным течением слабая степень обсемененности установлена в 32,2%, умеренная – в 24,4%, высокая – в 36,7%.

Уреза *H. pylori* и ее продукты выступают в качестве фактора вирулентности, инициатора воспалительной реакции за счет активации моноцитов и нейтрофилов, стимуляции секреции цитокинов, образования радикалов кислорода и окиси азота (Harris P. R. et al., 1996). Урезный дыхательный тест был положительным у 95,1 % больных с хроническим неатрофическим гастритом и у 93,6% больных с хроническим атрофическим гастритом. У больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки независимо от тяжести течения в 94% случаев получены критерии, позволяющие оценить тест положительно. У пациентов с хроническим атрофическим гастритом показатели прироста концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе достоверно превышали показатели больных с хроническим неатрофическим гастритом ($1,3 \pm 0,10$ мг/м³ в сравнении с $1,0 \pm 0,09$ мг/м³). При тяжелом течении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки исходная концентрация аммиака в выдыхаемом воздухе достоверно преобладала над показателем в группе доброкачественного течения язвенной болезни двенадцатиперстной кишки ($0,6 \pm 0,07$ мг/м³), что свидетельствует о высокой агрессии *H. pylori* (David R.S. et al., 1998, Berger M., 2000). По показателям прироста концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе сравниваемые группы больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки не отличались.

После проведения первого этапа ПЦР положительный результат на ДНК *H. pylori* получен в 92% биоптатов слизистой оболочки желудка у больных хроническим гастритом и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки. При детекции продуктов амплификации положительный результат на ДНК вирулентных штаммов *H. pylori* получен в 52 % клинических образцов (26 из 50), и все они были выявлены только в биоптатах больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки. Как видно из рисунка 1, при хроническом неатрофическом и атрофическом гастрите у 100% больных обнаруживался генетический материал авирулентных штаммов. При язвенной болезни неосложненного течения позитивный результат на ДНК вирулентных штаммов получен только у 23% больных, в то время как при осложненном течении втрое чаще - у 77% ($\chi^2=82,9$; $p<0,001$). При неосложненном варианте язвенной болезни двенадцатиперстной кишки спектр генотипов *H.pylori* также существенно отличался от больных с осложненной формой. У них обнаружен преимущественно моногенотип VacAm2 (vacuolating-associated cytotoxin) в 83%, характеризующийся незначительной токсической активностью (Guruge J. L. et al., 1998). Гораздо реже при неосложненной форме выявлялся комбинированный генотип VacAs1/s2.

Напротив, при осложненной форме язвенной болезни двенадцатиперстной кишки вирулентные штаммы были преимущественно комбинированными или смешанными. Важной причиной полиморфизма штаммов является нестабильность генома *H. pylori*, а также присутствие нескольких штаммов микроорганизма у одного больного.

В 94,7% случаев определялся генотип s1/s2 в комбинации с другими аллелями гена *vacA* (s1/s2+m1+m2, s1/s2 + m2), что характеризует максимальный или средний уровень секреции цитотоксина (Cover T. L., Blaser M. J., 1992, Guruge J. L. et al., 1998).

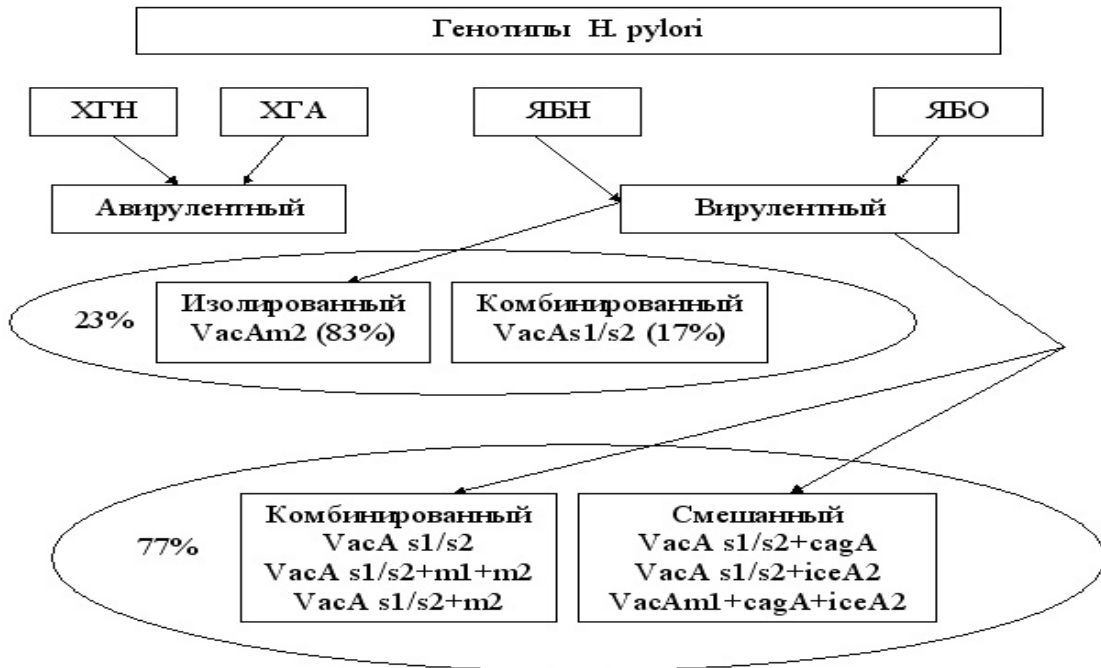


Рисунок 1. Генотипические варианты *H. pylori*, обнаруженные в биоптатах слизистой оболочки желудка у пациентов с хроническим гастритом и язвенной болезнью разного течения

«Смешанный» генотип, характеризующийся наличием аллелей *VacA*, *CagA* (cytotoxin-associated gene), *Ice A* (induced by contact with epithelium) генов определен нами в 30 % случаев тяжелого течения язвенной болезни двенадцатиперстной кишки.

В ходе нашего исследования не установлено какой – либо ассоциации между *BabA* (blood group antigen-binding adhesin) геном *H. pylori* и клиническими вариантами язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, хотя по данным Gerhard M. et al. (1999) ген *BabA2* может являться маркером для выявления больных, которые имеют высокую степень вероятности осложнений.

Анализ распространенности различных факторов риска у больных при хроническом неатрофическом, атрофическом гастрите, язвенной болезни двенадцатиперстной кишки неосложненного и осложненного течения представлен таблице 3.

Таблица 3

Распространенность факторов риска в группах больных с хроническим гастритом и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки

Факторы риска	ХГ n=213		ЯБ n=228		О Ш	p
	аб	%	аб	%		
	с		с			
Эндогенные факторы риска						

Отягощенная наследственность по <i>H. pylori</i> -ассоциированным заболеваниям	97	45,5	17 0	74 ,5	3 ,2	< 0,001
Астенический тип конституции (ИМТ< 19)	28	13,1	47	20 ,6	1 ,7	>0,05
Группа крови 0 _{αβ}	42	19,7	10 4	45 ,6	3 ,2	< 0,001
Экзогенные факторы риска						
Алиментарный фактор	22	10,3	12	5, 2	0 ,5	-
Табакокурение	46	21,5	20 4	89 ,4	2 5, 5	< 0,001
Употребление алкоголя	28	13,1	13	5, 7	0 ,4	-
Неблагоприятные условия труда	2	0,9	50	21 ,9	2 8, 8	< 0,001
Эмоциональное перенапряжение	32	15,0	16	7, 0	0 ,4	-
Сочетание факторов риска	11 1	52,1	83	36 ,4	0 ,5	-

Анализ таблицы показывает, что по распространенности четыре фактора риска вносят достоверный вклад, в соответствии с критерием отношения шансов, в развитие язвенной болезни двенадцатиперстной кишки: отягощенная наследственность по *H. pylori* – ассоциированным заболеваниям (ОШ= 3), группа крови 0_{αβ} (ОШ=3,2), интенсивное и длительное табакокурение (ОШ=25,5) и неблагоприятные условия труда (ОШ=28,8).

Исследование социально-гигиенических условий жизни пациентов с учетом: проживания в неблагоустроенных, густонаселенных квартирах и домах, употребления сырой водопроводной воды, пользования индивидуальными средствами личной гигиены и столовыми приборами, регулярного употребления овощей и фруктов с целью повышения иммунной активности организма, рационального лечения геликобактериоза у больного и у членов семьи. В результате не было получено достоверных отличий, как в сравнении с группой контроля, так и при межгрупповом сравнении.

Клинические особенности *H. pylori*-ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны

Ведущим в клинической картине обеих форм хронического гастрита был диспепсический синдром. При неатрофическом гастрите преобладал язвенноподобный вариант синдрома, который встречался у 70% пациентов этой группы в сравнении с 52% при атрофическом гастрите ($p < 0,01$). При этом больные нередко описывали «голодные», ночные боли, проходящие после приема пищи, антацидных и антисекреторных препаратов. У больных с атрофическим антральным гастритом в 2 раза чаще встречался дискинетический вариант диспепсии в сравнении с неатрофическим хроническим гастритом (44% в сравнении с 20%, $p < 0,001$), при этом в клинической картине преобладали жалобы на ощущение тяжести, переполнения в эпигастрии после приема небольшого объема пищи, быстрого насыщения.

Боль являлась самым характерным симптомом при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, частота ее колебалась от 82,8 до 96,8%. Пациенты всегда указывали на боль в эпигастральной области, независимо от внутриорганной локализации язвенного дефекта в двенадцатиперстной кишке и тяжести заболевания. У небольшой части больных - 4 пациента (3,2 %) в группе с неосложненным течением язвенной болезни и 18 (17,1%) с осложненным течением встречались безболевого формы патологии.

На втором месте среди симптомов у больных с неосложненным течением язвенной болезни двенадцатиперстной кишки были изжога и тошнота (43,7%), а при осложненном течении - мелена (44,7%). Для устранения влияния субъективного фактора на выраженность ноцицептивных ощущений, был использован клинико – психологический метод, позволяющий охарактеризовать боль с точки зрения ее восприятия, эмоциональной окраски, с учетом степени выраженности интеллектуальных переживаний, «внутренней картины болезни». Этим критериям соответствовал отечественный вариант Мак-Гиловского болевого опросника (Melzack R., Torgerson W., 1971).

При оценке болевого синдрома у больных с хроническим атрофическим гастритом в сравнении с неатрофическим достоверно высокими были показатели по сенсорной шкале, характеризующей интенсивность боли, и по аффективной шкале, определяющей воздействие боли на психику. При сопоставлении болевых ощущений у пациентов с неосложненной и осложненной формой язвенной болезни двенадцатиперстной кишки средние показатели по всем шкалам при осложнении были достоверно высокими.

При сравнении данных при инфицировании вирулентными и невирулентными генотипами *H. pylori* достоверными были показатели по индексу дескрипторов (9,57 баллов при вирулентном генотипе в сравнении с 3,21 балла при невирулентном) и по индексу рангов сенсорной шкалы (19,24 балла и 6,03 балла соответственно), что характеризовало высокую интенсивность боли (рис.2). Особенностью пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, инфицированных вирулентными генотипами *H. pylori*, было то, что их эмоциональный фон был снижен, для описания своих ощущений и оценки боли больные использовали небольшое количество слов, для них были характерны молчаливость, замкнутость, отчужденность больного, уход в себя, желание избегать контактов.

Данные, характеризующие психологические особенности пациентов, представлены в таблице 4.

Показатели самооценки тревоги и уровня тревожности у больных с вариантами хронического гастрита и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки

Показатель и, баллы	1 группа (ХГН) n=98	2 группа (ХГА) n=87	3 группа (ЯБН) n=92	4 группа (ЯБО) n=93	5 группа (контроль) n=40
Личностная тревожность	43,7±0,73 p<0,001 ₁₋₅	41,1±0,74	44,8±1,01 p<0,01 ₃₋₅	41,4±1,25	38,8±1,28
Реактивная тревожность	47,3±0,79 p<0,001 ₁₋₅	44,6±1,21 p<0,01 ₂₋₅	44,5±1,36 p<0,01 ₃₋₅	46,7±1,03 p<0,001 ₄₋₅	38,5±1,25
Тест Тейлора	20,5±1,05 p<0,001 ₁₋₅	16,5±0,80 p<0,01 ₂₋₅	18,7±0,98 p<0,001 ₃₋₅	17,4±1,01 p<0,01 ₄₋₅	12,4±1,28

P₁₋₅- достоверность различий между показателями ХГН и контрольной группы

P₂₋₅- достоверность различий между показателями ХГА и контрольной группы

P₃₋₅- достоверность различий между показателями ЯБН и контрольной группы

P₄₋₅- достоверность различий между показателями ЯБО и контрольной группы

Самооценка тревоги по тесту Спилбергера выявила у больных и у лиц контрольной группы средний уровень тревожности как устойчивой характеристики личности. При сравнительном анализе у больных с хроническим неатрофическим гастритом и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки неосложненного течения определялось достоверное превышение показателей личностной тревожности над показателями контрольной группы.

Показатели реактивной тревожности у больных во всех группах были достоверно выше в сравнении с контрольной группой. Самый высокий уровень реактивной тревожности зафиксирован у больных с осложненным течением язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. По шкале проявлений тревоги Тейлора у больных во всех группах определялся средний уровень тревоги с тенденцией к высокому. В сравнении с контрольной группой, для которой был характерен средний уровень проявлений тревоги с тенденцией к низкому, у больных во всех исследуемых группах наблюдалось достоверное преобладание проявлений тревоги.

Тревога и депрессия являются одним из значимых проявлений личностного реагирования. Предлагается рассматривать тревогу как эмоциональный коррелят вегетативной дисфункции и один из основных психологических механизмов хронизации желудочно - кишечной патологии (Фирсова Л. Д., 2003, Волевач А. В., Турьянов А. Х., 2006).

При изучении психологического профиля личности пациентов с помощью опросника СМОЛ при хроническом гастрите и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки достоверно чаще выявлялись различия с контрольной группой по шкале депрессии (рис.2).

У 17% больных с благоприятным течением язвенной болезни двенадцатиперстной кишки психологический статус определялся как норма. В 17 случаях (23,3%) показатель выше 70 Т- баллов выявлен по шкалам L, F, 1,2,6,7 и составил в среднем 71,9 Т- балла. Для всей группы больных с неосложненным течением язвенной болезни двенадцатиперстной кишки была характерна гибкость поведения, уверенность при необходимости принимать решения (достоверно низкий показатель по шкале 7 - $32,53 \pm 4,09$ балла в сравнении с $48,16 \pm 1,81$ балла в группе контроля). Характерные особенности установлены у больных с тяжелыми формами язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. Так, показатели депрессии у 40 пациентов из группы с осложненным течением язвенной болезни составили в среднем 72 Т- балла, а у 11 больных были самые максимальные показатели из возможных - 81,5 Т- баллов.

У этой категории больных отмечалось увеличение показателей по шкале достоверности – F, составив $60,12 \pm 3,07$ баллов в сравнении с $49,46 \pm 2,15$ баллов в контрольной группе, что характеризует своеобразие восприятия, логики, проявлений тревожности и потребность в помощи. Этим больным отличало также превышение показателей «невротической триады» (значения шкал 1,2,3 находились в пределах $57,45 \pm 2,02$; $59,38 \pm 2,94$; $58,81 \pm 2,12$ соответственно), характеризующей недостаточность психических и физических ресурсов для реализации мотивированного поведения в определенной ситуации.

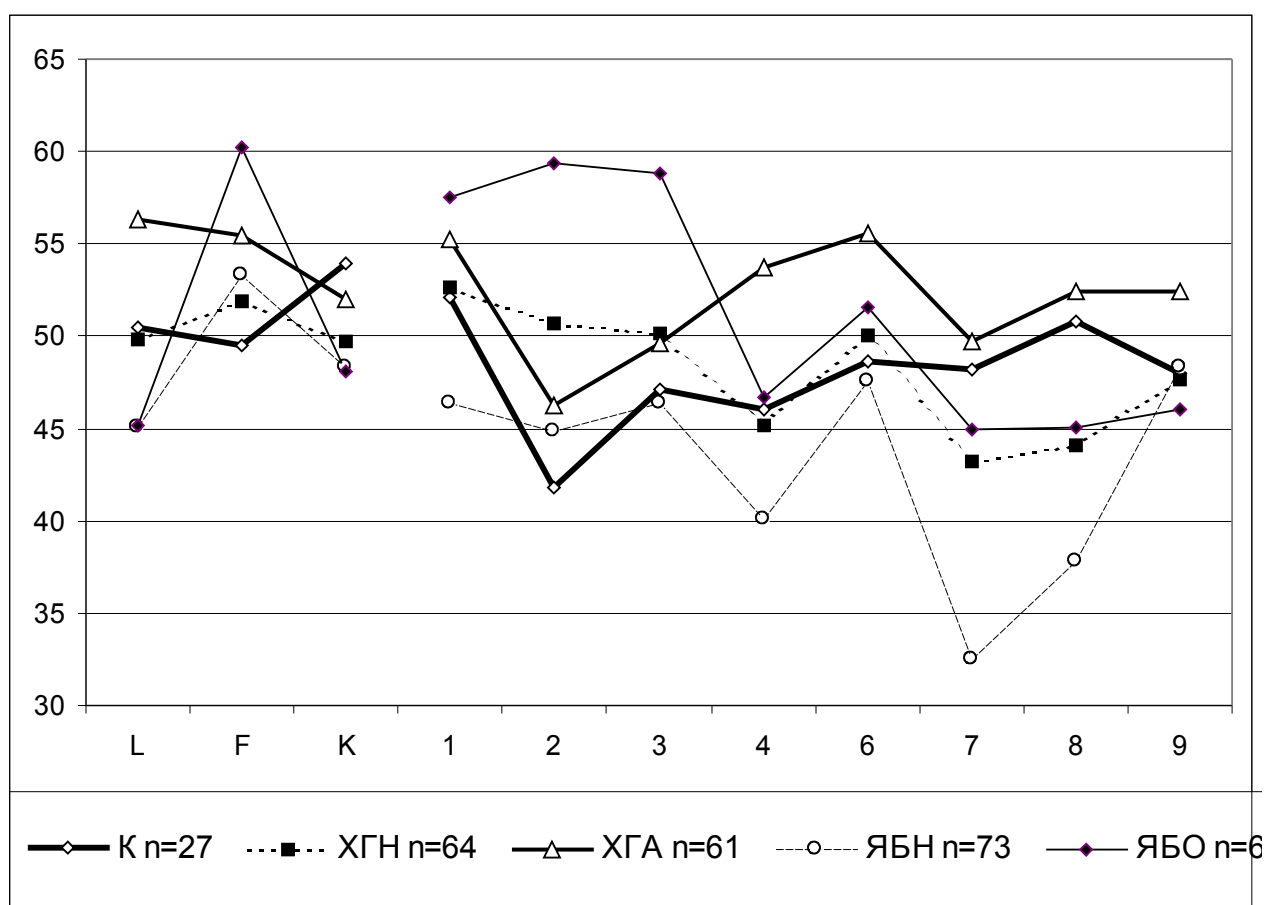


Рисунок 2. Психологический профиль СМОЛ исследуемых групп

Наименования шкал: шкала L-шкала «лжи»; шкала F-шкала «достоверности»; шкала K- шкала «коррекции»; 1- шкала ипохондрии; 2 - шкала депрессии; 3 – шкала истерии; 4 – шкала психопатии; 6 - шкала паранойальности (ригидности); 7 - шкала психастении; 8 – шкала шизофрении (индивидуалистичности); 9 - шкала гипомании (оптимизма и активности).

Далее была проведена оценка психологического статуса больных, инфицированных вирулентными и авирулентными генотипами *H. pylori* (рис. 3).

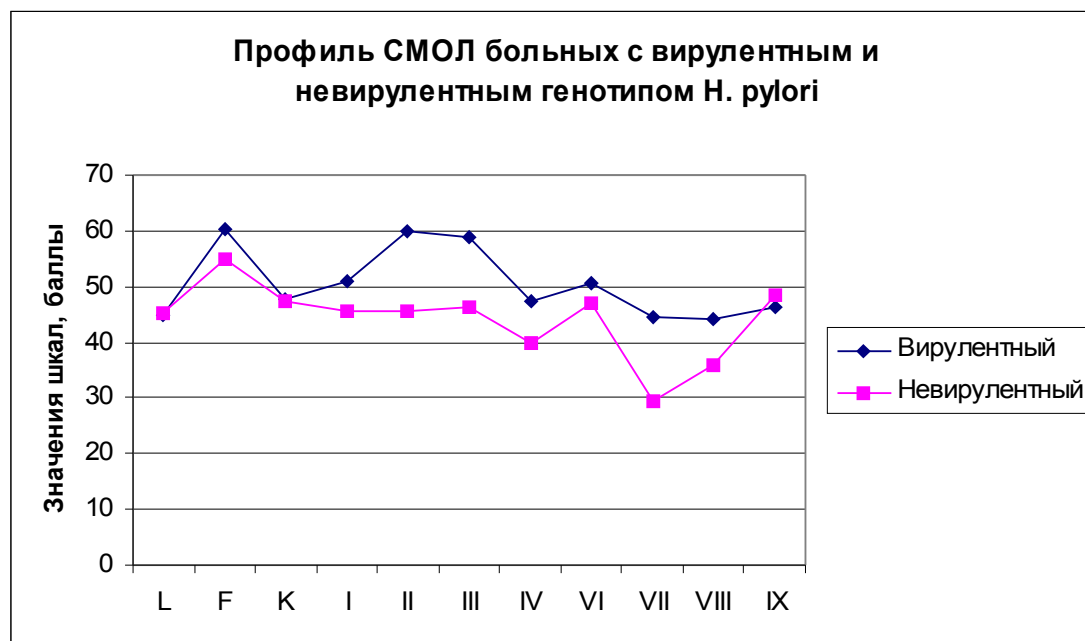


Рисунок 3. Психологический профиль СМОЛ больных с вирулентным и невирулентным генотипом *H. pylori*

Были получены достоверно значимые отличия в профиле СМОЛ больных с вирулентным генотипом по показателям шкал II, III, IV, VII, характеризующие затруднения социальной адаптации, ограничительное поведение. Обращала внимание разнонаправленность шкал II и IX, что отражает утрату интересов, безразличие к окружающему, подавленность влечений, т. е. депрессию.

Одним из наглядных показателей психологического состояния пациента является интенсивность табакокурения, которая оказалась существенно выше при язвенной болезни, чем при гастрите, при этом выявлена сильная положительная корреляционная связь между интенсивностью курения и показателем депрессии ($r=0,8$; $p<0,01$).

Были выявлены сильные положительные корреляционные связи между параметрами боли и показателями личностной, реактивной тревожности, тестом Тейлора при осложненном течении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки ($r =0,62-0,7$; $p<0,001$).

Кислотообразующая функция желудка у исследуемой группы больных

У больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки в сравнении с больными хроническим гастритом в базальную фазу показатели секреции не отличались, но после проведения щелочного теста выявлены достоверно высокие показатели продукции соляной кислоты в антральном отделе ($1,12\pm 0,29$) и теле желудка ($2,79\pm 0,30$). Это является свидетельством гиперреактивности рецепторов, стимулирующих париетальные клетки желудочных желез. В теле желудка при осложненном течении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки констатировалась гиперацидность - рН $1,39\pm 0,25$, при хроническом гастрите и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки неосложненного течения кислотообразование в базальную фазу оценивалось как пониженное, так как не выходило за пределы показателя рН 6,0. При вариантах хронического гастрита достоверных различий в показателях рН как в базальную фазу, так и после щелочного теста между

вариантами заболевания не выявлено. При осложненном течении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки наблюдалась декомпенсация ощелачивания (рН 1,98), при всех других вариантах геликобактерной инфекции – его субкомпенсация с показателями рН в антральном отделе от 2,63 до 3,43. Щелочное время характеризовало повышение продукции соляной кислоты натошак при осложненных формах язвенной болезни двенадцатиперстной кишки ($20,0 \pm 6,40$ мин.). При хроническом гастрите констатировалась нормальная интенсивность кислотопродукции (21,53 – 23,3 мин.), при неосложненном течении язвенной болезни щелочное время было несколько «затянута» - $26,36 \pm 2,80$ мин.

Результаты фиброзофагогастродуоденоскопии

Эндоскопическое исследование является обязательным при ведении больных с *H. pylori*-ассоциированными заболеваниями гастродуоденальной зоны (таблица 5).

Таблица 5

Частота выявления эндоскопических изменений, в процентах

Отдел	Характер изменений	ХГН (n=103)	ХГА (n=110)	ЯБН (n=123)	ЯБО (n=105)
Пищевод	Пролапс СОЖ в пищевод	2,9	15,5	12,5	12,4
	Гиперемия дистального отдела	20,4	25,4	7,1	19,0
	Налет фибрина	0	0	0	15,2
Антральный отдел желудка	Гиперемия очаговая	79,6	100	89,8	25,7
	Гиперемия диффузная	20,4	0	10,1	48,6
	Изменение сосудистого рисунка (нечеткость)	0,9	94,5	37,5	25,7
	Слизь	39,8	41,8	22,6	25,7
	Желчь	12,6	41,8	21,9	19
	Эрозии	18,4	40,9	22,6	8,6
	Утолщение складок	19,4	13,4	12,5	25,7
Луковица двенадцатиперстной кишки	Нарушение перистальтики	19,4	34,5	6,3	15,2
	Эритематозный	27,1	32,7	78,1	96,2
	Геморрагический	0	0	71,8	27,6
	Эрозивный	10,6	50,9	12,5	65,7

При эндоскопическом исследовании определялись признаки неэрозивного эзофагита у 20,4 – 25,4% больных с хроническим неатрофическим и атрофическим гастритом и у 7,1 – 19 % больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки неосложненного и осложненного течения соответственно. Воспалительные изменения в антральном отделе желудка визуализировались практически у всех больных в виде очаговой и диффузной гиперемии слизистой оболочки,

обнаруживалась слизь примерно в 2 раза чаще у больных с хроническим гастритом в сравнении с больными язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки. Нарушение ритма перистальтики желудка, зияние пилорического сфинктера с рефлюксом дуоденального содержимого отмечено чаще у больных с хроническим атрофическим гастритом (41,8%), что определяло клинические проявления дискинетического варианта диспепсии у этой категории больных. Эндоскопическим признаком атрофии слизистой оболочки антрального отдела желудка было изменение сосудистого рисунка в виде его нечеткости, наибольшая частота которого определялась у больных с атрофическим гастритом (94,5%), при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки этот признак обнаруживался в 37 - 25% случаев неосложненного и осложненного течения соответственно.

Интересным был факт вовлечения в воспалительный процесс слизистой оболочки луковицы двенадцатиперстной кишки в форме эритематозного дуоденита у одной трети больных с хроническим неатрофическим и атрофическим гастритом, причем у 50% больных с атрофическим гастритом были обнаружены острые и хронические эрозии, как на фоне полей гиперемии, так и изолированно. Возможным объяснением этого факта является редукция функциональной кислотонейтрализующей активности антрального отдела желудка, лежащая в основе феномена «протекающей крыши» («Leaking roof» concept) G. Goodwin (1988).

Наличие активной дуоденальной язвы при неосложненном течении в 72 – 78% сопровождалось эритематозно – геморрагическими изменениями слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки, а язвенные дефекты с признаками кровотечения сочетались в 65,7 % случаев с эрозивным бульбитом.

У больных с кровотечениями язвенные дефекты несколько чаще, хотя и недостоверно, локализовались на передней – 61,9% (ОШ=1,3; $\chi^2=0,89$; $p=0,34$) и задней стенке луковицы двенадцатиперстной кишки - 26,7% (ОШ=1,2; $\chi^2=0,31$; $p=0,57$). Средний размер язвенных дефектов при осложненном течении заболевания был больше - $10,5\pm 0,60$ мм, чем при неосложненном – $6,4\pm 0,22$ мм ($p<0,001$). На дне язвенных дефектов при неосложненном течении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки в 100 % случаев определялся налет фибрина. При осложненном течении в 57,1% случаев выявлен налет фибрина, в 10,5% - гематина, в 17,1% фибрина в сочетании с гематином, в 9,6% - сгусток крови, в 3,8% - фиксированный тромб, в 1,9% - капиллярное кровотечение.

Морфологические изменения слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки при вариантах хронического гастрита и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки

Оценка морфологических изменений слизистой оболочки желудка в антральном отделе желудка с учетом критериев визуальной – аналоговой шкалы выявила незначительное преобладание умеренной степени нейтрофильно–лимфоцитарной инфильтрации при неатрофическом гастрите (55,3%) и высокой степени в 48,1% случаев - при атрофическом гастрите, без достоверных различий. При язвенной болезни двенадцатиперстной кишки при обоих вариантах течения преобладала высокая степень активности и воспаления (55,5 и 71,4% соответственно).

Атрофия характеризовалась умеренной степенью выраженности во всех трех группах больных, но по количественному показателю была достоверно высокой ($2,18\pm 0,03$) при осложненном течении

язвенной болезни двенадцатиперстной кишки (таблица 8). На фоне атрофического процесса в слизистой оболочке антрального отдела желудка определялись клетки, характеризующие метаплазию несвойственным эпителием I и II типа в 44 – 50% при хроническом атрофическом гастрите и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки неосложненного течения, при осложненном течении преобладала кишечная метаплазия I типа (68,3%).

С учетом выявления у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки разных по вирулентности генотипов *H. pylori*, было проведено сравнительное исследование характера морфологических изменений слизистой оболочки желудка при невирулентных и вирулентных генотипах вне зависимости от тяжести заболевания.

Характеристика морфологических изменений в зависимости от вирулентности генотипа *H. pylori*.

Генотип <i>H. pylori</i>	Кол-во язвенных дефектов, средний размер (мм)	НР-обсеменен- ность, степень	Активность, степень	Воспаление, степень
Невирулентный n=22	Одиночные, 7,4±1,95	2,2±0,38	2,2±0,38	2,2±0,38
Вирулентный (включая <i>vacA m2</i>) n=26	Одиночные, множественные, 13,0±4,8	2,3±0,29	2,2±0,27	2,6±0,16
Высоковирулентный n=21	Одиночные, множественные, 17,3±6,7*	2,8±0,16*	2,7±0,21*	2,8±0,16
Варианты вирулентного генотипа				
<i>vacA m2</i> n=5	Одиночные, 4 ±0,13	1,33±0,32	1,33±0,32	2,0
<i>vacA s1/s2</i> n=9	Множественные, 8 ±0,1	3,0**	2,5±0,5	2,5±0,5
<i>vacA s1/s2+ m1+m2</i> n=3	7,2±0,12	3,0**	2,2±0,24	2,8±0,3
<i>vacA s1/s2 + m2</i> n=2	Одиночные, 7,0	3,0**	2,0	3,0
<i>vacA s1/s2+ cagA</i> n=1	Одиночные, 10,0	3,0**	2,0	2,0
<i>vacA s1/s2 + iceA2</i> n=4	Множественные 11±0,07	2,5±0,5	3,0**	3,0**
<i>vacA m1 + cagA + iceA2</i> n=1	Множественные, 15,0	3,0**	3,0**	3,0**
<i>iceA2</i> n=1	Одиночные, гигантские, 50,0	3,0**	3,0**	3,0**
Комбинация аллелей <i>vacA</i> n=14	7,6±0,06	3,0**	2,3±0,33	2,7±0,33
Смешанный генотип n=7	11,7±0,11**	2,75±0,25	2,5±0,5	2,8±0,25

Примечание: *- достоверность различий между показателями вирулентных и невирулентных генотипов по критерию Манна – Уитни, Фишера; ** - достоверность различий между показателями *vacA m2* генотипа и другими вариантами генотипа *H. pylori* по критерию Манна – Уитни, Фишера

Анализ таблицы 6 показывает, что инфицирование высоковирулентным генотипом характеризовалось формированием достоверно больших по размерам язвенных дефектов ($17,3 \pm 6,7$ мм), достоверно высокими показателями степени обсемененности слизистой оболочки желудка *H. pylori*, степени активности и степени воспаления, приближающихся к максимальным значениям ($2,7 \pm 0,21$ и $2,8 \pm 0,16$ соответственно). При выделении генотипических вариантов *H. pylori*, содержащих *iceA2*, установлено превалирование множественных и гигантских язвенных дефектов на фоне максимальной степени обсемененности *H. pylori*, активности и воспаления, что может быть проявлением высокого токсического потенциала данного генотипа.

При анализе клеточного состава инфильтрата слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки при всех вариантах *H. pylori* - ассоциированной патологии наблюдалось достоверно высокое содержание всех компонентов клеточного инфильтрата в сравнении с показателями группы контроля. Клеточный инфильтрат слизистой оболочки желудка при хроническом атрофическом гастрите и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки осложненного течения отличался преобладанием нейтрофильного и лимфоцитарного компонента в сравнении с другими группами больных. Удельный вес плазмочитов был относительно низким при всех вариантах патологии, о чем свидетельствует соотношение между лимфоцитами и плазмочитами, которое составило 2,6-3,6: 1, в то время как в норме оно должно быть 1: 4,3 (Аруин Л.И. с соавт., 1998). С этим может быть связано снижение способности к синтезу иммуноглобулинов и соответственно недостаточность локального иммунного ответа.

В клеточном инфильтрате двенадцатиперстной кишки в сравнении с контрольной группой ($7,45 \pm 4,49$ клеток в 1 мм^3 гистологического среза) был слабо выражен лимфоцитарный компонент ($19,20 \pm 1,50$ клеток при неосложненной форме, $p < 0,05$ и $17,39 \pm 2,05$ клеток в 1 мм^3 гистологического среза при осложнениях, $p > 0,05$).

Сравнительный анализ клеточного инфильтрата в слизистой оболочке антрального отдела желудка и двенадцатиперстной кишки определил, что у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки инфильтрат слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки при обеих формах заболевания был менее плотным в сравнении с инфильтратом слизистой оболочки желудка, отличался достоверно меньшим количеством лимфоцитов, моноцитов. Тяжелые формы язвенной болезни отличались преобладанием в слизистой оболочке антрального отдела желудка нейтрофилов ($8,8 \pm 0,24$ клеток в сравнении с $7,28 \pm 0,59$ в 1 мм^3 гистологического среза) и плазмочитов ($31,2 \pm 10,6$ клеток в сравнении с $8,33 \pm 1,35$ в 1 мм^3 гистологического среза). Таким образом, инфильтрат слизистой оболочки антрального отдела желудка у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки отличался от инфильтрата двенадцатиперстной кишки более выраженным воспалительным и иммуномедийным компонентом, что подтверждает значимость антрального гастрита и иммунных механизмов в антродуоденальной экспансии воспаления.

Наряду со стандартными морфологическими методами оценки слизистой оболочки у больных с разными клиническими вариантами *H. pylori*-ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны нами была проведена оценка некоторых маркеров пролиферации

(Ki-67) и регуляции апоптоза (p53) эпителиоцитов.

В таблице 7 представлены показатели экспрессии p53 и Ki-67 в слизистой оболочке антрального отдела желудка

Таблица 7

Количество эпителиоцитов, экспрессирующих p53 и Ki 67 в антральном отделе слизистой оболочки желудка у пациентов

Показатели	1 группа ХГН n=23 M±m	2 группа ХГА n=17 M±m	3 группа ЯБН n=27 M±m	4 группа ЯБО n=25 Mms	5 группа Контроль n=10 M±m
Число Ki 67 позитивных клеток в поверхностном эпителии,%	13,37±0, 32	16,34±1, 04	14,67±1, 42	13,75±3, 09	12,54±1,54
Число p53 позитивных клеток в поверхностном эпителии, %	4,12±0,1 7 p<0,01 ₁₋₅	6,76±1,2 5 p<0,05 ₂₋₅	5,7±0,76 p<0,01 ₃₋₅	8,6±0,04 p<0,001 ₄₋₅	3,12± 0,23
Соотношение Ki-67/p53 в поверхностном эпителии	3,2:1	2,4:1	2,6:1	1,6:1	4,03:1
Число Ki 67 позитивных клеток в шеечном эпителии,%	14,91±1, 45	14,99±1, 5	14,16±2, 2	15,73±2, 06	12,01± 0,97
Число p53 позитивных клеток в шеечном эпителии, %	5,41 ±1,34	7,71±1,1 7 p<0,01 ₂₋₅	4,7± 0,36 p<0,05 ₃₋₅	6,4±1,22 p<0,05 ₄₋₅	3,51±0,15
Соотношение Ki-67/p53 в шеечном эпителии	2,7:1	1,9:1	3,0:1	2,4:1	3,4:1

p – достоверность различий с контрольной группой

При всех анализируемых вариантах Н. pylori-ассоциированных заболеваний установлено отсутствие достоверных различий с контрольной группой по численности эпителиоцитов, экспрессирующих маркеры пролиферации Ki-67, что скорее всего отражает неадекватную реакцию системы клеточного обновления слизистой оболочки на повреждение в этих условиях.

При всех анализируемых вариантах *H. pylori*- ассоциированных заболеваний достоверно нарушается экспрессия проапоптогенного регуляторного белка p53 в поверхностном эпителии желудка в сопоставлении с контрольной группой. При тяжелом течении язвенной болезни отмечен самый высокий процент клеток, экспрессирующих p53 в поверхностном эпителии - $8,6 \pm 0,04$ % ($p < 0,001$). Количество p53-позитивных эпителиоцитов у пациентов во всех группах существенно растет, что может лежать в основе превалирования атрофических процессов при развитии атрофического гастрита и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки.

Практически во всех группах больных по показателям экспрессии p53 наблюдался достоверный прирост p53 позитивных эпителиоцитов и в шеечном эпителии в сравнении с контрольной группой (в 1,3 - 2,7 раза), исключение в этом отношении составляет лишь группа с неатрофическим хроническим гастритом. Для оценки адекватности пролиферативного ответа имеет значение соотношение показателей пролиферации и проапоптогенных процессов. В контрольной группе соотношение числа эпителиоцитов с маркерами Ki-67 и p53 составило в поверхностном эпителии 4:1, а в шеечном 3,4:1. Изменение соотношения Ki-67/p53 отражает дисбаланс процессов пролиферации и апоптоза, наиболее выраженный при атрофическом гастрите и язвенной болезни осложненного течения. В условиях атрофии зона гибели клеток, как правило, не ограничивалась покровно – ямочным эпителием, а распространялась на железистый эпителий.

Сравнение показателей экспрессии p53 и Ki-67 в поверхностном и шеечном эпителии слизистой оболочки желудка при инфицировании вирулентными и невирулентными штаммами *H. pylori* представлено в таблице 8.

Таблица 8

Количество p53 и Ki-67 –позитивных эпителиоцитов при инфицировании вирулентными и невирулентными генотипами *H. pylori*

Показатели	Вирулентный генотип (n=16)	Невирулентный генотип (n=21)	p по Манну- Уитни
	M±s	M±s	
Число Ki-67 позитивных клеток в поверхностном эпителии, %	7,38±1,17	14,53±3,82	<0,01
Число p53 позитивных клеток в поверхностном эпителии, %	6,31±3,05	6,44±3,06	>0,05
Соотношение Ki-67/p53 в поверхностном эпителии	1,2:1	2,25:1	
Число Ki-67 позитивных клеток в шеечном эпителии, %	30,5±3,59	13,85±5,05	<0,01
Число p53 позитивных клеток в шеечном эпителии, %	18,05±4,51	5,46±3,47	<0,01
Соотношение Ki-67/p53 в	1,7:1	2,5:1	

шеечном эпителии			
------------------	--	--	--

Как видно из таблицы, в поверхностном эпителии у больных при выделении вирулентных генотипы *H. pylori*, в сопоставлении с пациентами, у которых выделены авирулентные штаммы, в наибольшей степени нарушены процессы пролиферации, о чем свидетельствует двукратное снижение числа Ki-67-позитивных эпителиоцитов в первой группе. Достоверных различий по числу эпителиоцитов, экспрессирующих проапоптогенный p53, между группами не установлено. Иная картина наблюдалась в шеечном эпителии: у больных с вирулентными генотипами в отличие от пациентов с авирулентными вариантами микроба достоверно превалировала численность Ki-67 - позитивных эпителиоцитов при параллельном и очень выраженном росте числа p53 позитивных клеток, что меняет баланс этих клеток. При инфицировании вирулентными штаммами *H. pylori* дислокация процессов апоптоза в шеечный эпителий характеризуется соотношением Ki-67/p53 - 1,7:1. Учитывая, что шеечный эпителий является основной герминативной зоной, следует оценивать выявленный дисбаланс пролиферации и апоптоза как ведущий механизм патогенеза атрофии, связанный с действием вирулентных штаммов (Аруин Л. И. с соавт., 1998).

Таким образом, при всех клинических вариантах течения *H. pylori*-ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны происходит изменение нормального соотношения пролиферации и проапоптогенных процессов в эпителии желудка, с максимальными отклонениями от нормы при персистенции вирулентных генотипов.

Характер иммунологических реакций при вариантах геликобактерной инфекции гастродуоденальной зоны

Результаты анализа популяционного спектра лимфоцитов при разных генотипах *H. pylori* представлены в таблице 9.

Таблица 9

Популяционный спектр лимфоцитов периферической крови при вирулентных и невирулентных генотипах инфекции

Показатели	Контроль M±m (n = 40)	Вирулентный генотип M±m (n=22)	Невирулентный генотип M±m (n=25)	p1	p2	p3
Лейкоциты, (x 10 ⁹) /л	4,75±0,12	6,27±0,52	6,18±0,38	>0,05	>0,05	>0,05
Лимфоциты, абс.	151,2±19,31	147,75±18,63	153,70±11,11	>0,05	>0,05	>0,05

CD3+, абс.	1,03±0,0 4	0,80±0,02	0,87±0,05	<0 ,001	<0,0 5	> 0, 0 5
CD4+, абс.	0,62±0,0 3	0,50±0,06	0,52±0,03	>0 ,05	>0,0 5	> 0, 0 5
CD8+, абс.	0,38±0,0 1	0,33±0,04	0,33±0,02	>0 ,05	>0,0 5	> 0, 0 5
CD4/8	1,63±0,0 4	1,56±0,03	1,55±0,03	>0 ,05	>0,0 5	> 0, 0 5
CD22+, абс.	0,26±0,0 1	0,15±0,03	0,20±0,02	<0 ,001	<0,0 1	> 0, 0 5
CD16+, абс.	0,20±0,0 3	0,17±0,01	0,23±0,04	>0 ,05	>0,0 5	> 0, 0 5
CD25+, абс.	0,30±0,0 3	0,4±0,01	0,1±0,05	<0 ,01	<0,0 1	< 0, 0 0 1
CD95+, абс.	0,5±0,05	0,1±0,05	0,3±0,04	<0 ,001	<0,0 1	< 0, 0 1
Апоптоз,%	2,1±0,26	3,8±0,21	2,5±0,15	<0 ,001	>0,0 5	< 0, 0 0 1
ИРА, %	5,9±0,48	2,4±0,13	5,6±0,64	<0 ,001	>0,0 5	< 0, 0

						0 1
CD25/95	0,6	4	0,3			
Vcl-2, %	18,3	12,5	36,7	<0 ,05	<0,0 1	< 0, 0 1

Достоверность различий между показателями: p1 - группы с вирулентным генотипом и контролем; p2 - группы с невирулентным генотипом и контролем; p3 – группы с вирулентным и невирулентным генотипом

Установлено, что общим в иммунном ответе больных с *H.pylori* инфекцией, вызванной вирулентными и невирулентными генотипами, в сопоставлении с контрольной группой было, во-первых, отсутствие изменений в общем количестве лейкоцитов, лимфоцитов, естественных киллеров, а также в числе Т- хелперов и Т- цитотоксических клеток, их соотношении. Во-вторых, общим было достоверное и приблизительно одинаковое снижение в циркуляции числа Т- и В- лимфоцитов. Снижение количества Т- и В- клеток в крови может быть связано с угнетением лимфопоэза на уровне центральных органов иммунной системы, с нарушением их миграции на периферию, с накоплением клеток в органах-мишенях при развитии воспаления, но также с угнетением антиген-зависимой стадии развития иммуноцитов и с увеличением их гибели. В-третьих, были обнаружены и особенности формирования иммунного ответа хозяина на *H. pylori* инфекцию, вызванную разными по вирулентности возбудителями. Эти особенности проявлялись существенными различиями в течении процессов активации, пролиферации, дифференцировки и апоптоза лимфоцитов на уровне периферических органов иммунной системы.

У пациентов при выделении невирулентных генотипов *H. pylori*, иммунный ответ был выражен гораздо слабее. У них число CD25+ лимфоцитов, экспрессирующих ранние маркеры позитивной активации в виде рецептора к IL-2, оказалось достоверно ниже не только в сравнении с больными, инфицированными вирулентными штаммами, но и в сопоставлении с контрольной группой. Число CD95+ клеток, экспрессирующих маркеры негативной активации, при этом стало также существенно ниже, чем в контроле, но достоверно превышало количество клеток с готовностью к апоптозу у больных, инфицированных вирулентными штаммами *H. pylori*. Таким образом, к особенностям клеточного иммунного ответа на невирулентные генотипы *H.pylori* следует отнести:

- отсутствие лейкоцитоза или иного сдвига в общем количестве лейкоцитов;
- низкое количество Т- и В- лимфоцитов в кровотоке;
- снижение числа клеток с маркерами позитивной и негативной активации в сопоставлении с группой здоровых лиц;
- сохранение соотношения CD25/CD95 и индекса реализации апоптоза лимфоцитов на уровне, близком к норме;

- число лимфоцитов, экспрессирующих антиапоптогенный белок Bcl-2 достигает максимума в сравнении со всеми группами, включенными в исследование.

Следует признать, что уровень системного иммунного ответа больных на невирулентные генотипы возбудителя минимален, что, вероятно, позволяет *H. pylori* уйти от контроля защитных механизмов, обеспечить себе условия для персистенции. Иная картина наблюдается при инфицировании пациентов вирулентными штаммами. У этих пациентов установлены:

- достоверное повышение в сопоставлении с контрольной группой численности CD25+ клеток, экспрессирующих маркер позитивной активации;
- минимальный уровень лимфоцитов, экспрессирующих рецептор готовности к апоптозу и соответственно максимальное соотношение CD25/CD95 клеток, что отражает явное превалирование процессов позитивной активации над негативными;
- максимальное количество лимфоцитов с морфологическими признаками апоптоза в виде фрагментации ядра
- нарушение регуляции апоптоза в виде достоверного снижения числа лимфоцитов, экспрессирующих антиапоптогенный белок Bcl-2.

Ответ гуморального компартмента иммунной системы на разные по вирулентности генотипы *H. pylori* представлен в таблице 10.

Таблица 10

Показатели гуморального иммунитета у больных с вирулентными и невирулентными штаммами *H. pylori*.

Показатели	Контроль M ±m (n = 40)	Вирулентны й генотип M ±m (n=22)	Невирулентны й генотип M ±m (n=25)	p1	p2	p3
IgA, г/л	2,35±0,04	1,42±0,35	2,21±0,25	<0,01	>0,05	<0,05
IgM, г/л	1,24±0,05	0,66±0,18	1,44±0,09	<0,001	<0,05	<0,001
IgG, г/л	12,4±0,05	8,28±0,78	8,70±0,35	<0,001	<0,001	>0,05
ЦИК, усл. ед.	48,4±3,20	49,83±10,8	49,64±4,53	>0,05	>0,05	>0,05
Дисперсность ЦИК	1,18±0,01	0,99±0,03	1,13±0,03	<0,001	>0,05	<0,001
СН50, ед	68,78±1,58	54,18±4,01	64,82±2,78	<0,001	>0,05	<0,01

C1	69,96±2,07	47,83±13,08	60,64±4,37	>0,05	>0,05	>0,05
C2	52,66±1,30	32,83±3,74	45,87±4,74	<0,001	>0,05	<0,05
C3	66,22±2,37	38,66±4,0	67,80±6,31	<0,001	>0,05	<0,001
C4	74,14±2,47	41,66±3,94	74,35±6,74	<0,001	>0,05	<0,001
C5	69,89±2,03	32,33±4,8	46,03±5,03	<0,001	<0,001	>0,05

C1-C5 x 10⁸ измеряется в единицах эффективных молекул в 1 мл

Достоверность различий между показателями: p1 - группы с вирулентным генотипом и контролем; p2 - группы с невирулентным генотипом и контролем; p3 – группы с вирулентным и невирулентным генотипом

У больных с вирулентными генотипами *H. pylori* отмечено подавление практически всех звеньев гуморального иммунитета, включая все классы иммуноглобулинов и активность большинства компонентов комплемента. Возможно, в силу этого, количество циркулирующих иммунных комплексов у пациентов не отличалось от показателей контрольной группы. При выявлении вирулентных генотипов *H. pylori* уровень специфических антигеликобактерных антител класса IgG был минимальным и составил 75,85 ±29,51 AU, в то время как при инфицировании невирулентными штаммами - 149,34±50,57 AU (p<0,01). Таким образом, выявлено достоверное снижение специфического гуморального иммунного ответа организма на вирулентные генотипы *H. pylori*.

Характер иммунного ответа на инфекцию в значительной степени отражает уровень и спектр секретируемых иммунными клетками цитокинов, показатели которых у пациентов, инфицированных разными по вирулентности штаммами возбудителя, представлены в таблице № 11.

Таблица 11

Сывороточные цитокины у больных с вирулентными и невирулентными генотипами *H. pylori*

Уровни цитокинов	Контроль M ± m (n = 40)	Вирулентный генотип M ± m (n=22)	Невирулентный генотип M ± m n=25	p1	p2	p3
TNFα, пг/мл	13,4±0,44	139,87±56,53	22,78±2,11	<0,001	<0,001	<0,001
IL – 6, пг/мл	19,3±1,34	49,03 ±14,80	28,03±6,03	<0,05	>0,05	<0,001
IL – 8, пг/мл	14,67±3,2	106,25±34,10	54,39±13,29	<0,05	<0,01	<0,001
ЛФ, нг/мл	-	1624,53±217,30	1543,55±152,32			<0,001

p1- достоверность различий между уровнем цитокинов при вирулентных штаммах *H. pylori* и контрольной группой

p2- достоверность различий между уровнем цитокинов при невирулентных штаммах *H. pylori* и контрольной группой

p3 – достоверность различий между уровнем цитокинов при вирулентных и невирулентных штаммах *H. pylori*

Из таблицы следует, что у больных, инфицированных невирулентными штаммами *H. pylori*, содержание в крови провоспалительных цитокинов (TNF α , IL-6, IL-8), а также лактоферрина, который рассматривают как маркер активации клеток-продуцентов, продукт генов-протоонкогенов и острофазовый воспалительный белок, оказалось существенно более низким, чем при выделении от пациентов вирулентных генотипов бактерий.

Таким образом, системный провоспалительный потенциал у больных, инфицированных авирулентными генотипами *H. pylori*, существенно ниже, чем у лиц, инфицированных вирулентными генотипами.

В связи с ключевой ролью мукозального компартмента иммунной системы при поражении слизистых оболочек, особое внимание в своей работе мы уделили анализу состояния секреторного иммунитета желудочно-кишечного тракта на основе изучения показателей слюны. Показатели секреторного иммунитета слюны при хроническом гастрите в сопоставлении с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки представлены в таблице 12.

Таблица 12

Показатели иммунограммы слюны у больных с хроническим гастритом и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки до лечения

Показатель	Контроль M \pm m n= 10	ХГ M \pm m n= 56	ЯБ M \pm m n=46	p1	p2	p3
sIgA, г/л	95 \pm 0,06	30,37 \pm 0,68	187,6 \pm 2,53	<0,01	<0,01	<0,01
СН0	32,74 \pm 1,82	30,37 \pm 0,68	29,71 \pm 0,68	>0,05	>0,05	>0,05
С1	2,48 \pm 0,40	2,21 \pm 0,50	2,56 \pm 0,22	>0,05	>0,05	>0,05
С2	2,89 \pm 0,71	1,78 \pm 0,30	2,17 \pm 0,21	>0,05	>0,05	>0,05
С3	2,13 \pm 0,32	2,37 \pm 0,50	2,52 \pm 0,33	>0,05	>0,05	>0,05
С4	2,92 \pm 0,69	2,13 \pm 0,40	1,95 \pm 0,17	>0,05	>0,05	>0,05
С5	1,78 \pm 0,31	1,94 \pm 0,22	2,11 \pm 0,21	>0,05	>0,05	>0,05

Б ело к, мг %	193,5±14,06	240,28±23,0	235,94±14,35	>0,0 5	>0,0 5	>0,05
М уц ин, мг %	34,0±9,59	51,0±5,73	54,34±3,23	>0,0 5	>0,0 5	>0,05
Т NF α, пг/ мл	0,17±0,01	2,34±0,4	2,92±0,5	<0,0 1	<0,0 1	>0,05
Л Ф, нг/ мл	124,3±5,78	817,3±32,17	525,85±13,25	<0,0 1	<0,0 5	>0,05
І L-6	2,7±0,34	6,79±1,12	17,37±3,17	<0,0 5	<0,0 1	<0,05
І L-8	37,24±2,52	154,66±12,54	128,44±4,74	<0,0 1	<0,0 1	>0,05

C1-C5 x 10⁸ измеряется в единицах эффективных молекул в 1 мл

Достоверность между показателями: p1- больных с хроническим гастритом и контролем;

p2 – больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и контролем;

p3 – больных с хроническим гастритом и язвенной болезнью

В целом изменения иммунных показателей слюны при изучаемых вариантах *H. pylori*-ассоциированных заболеваний можно охарактеризовать как однотипные. Они характеризуются адекватным ростом содержания sIgA, наиболее выраженным при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. Отсутствие признаков активации в системе комплемента при этом можно объяснить свойствами данного класса иммуноглобулинов, не способных активировать систему комплемента по классическому пути при взаимодействии с антигенами. Наряду с этим в слюне установлены очень высокие уровни провоспалительных цитокинов - TNFα, IL-6, IL-8 и одного из острофазовых воспалительных белков (лактоферрина) в сравнении с контрольной группой. При сопоставлении содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови и в слюне оказалось, что уровень TNFα и IL-6 был существенно выше в слюне, что может отражать гиперпродукцию цитокинов на уровне мононуклеарных клеток, ассоциированных со слизистыми оболочками, а менее выраженный рост этих цитокинов в крови при хроническом гастрите и при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки - как результат их поступления из области локального воспаления в кровотоки. Кроме того при разных *H. pylori*-ассоциированных заболеваниях существенно изменялся уровень конечных стабильных метаболитов оксида азота в сыворотке крови пациентов с максимумом их содержания при язвенной болезни осложненного течения, что позволяет предполагать с большой

долей вероятности значимость повышенной продукции NO наряду с ростом уровня провоспалительных цитокинов в реализации воспаления.

Оптимизация диагностики *H.pylori*-ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны

«Золотым» стандартом индикации *H. pylori* остаются морфологический метод выявления инфекции в сочетании уреазным тестом. В комбинации с этими методами используется также непрямой метод диагностики - определение специфических антигеликобактерных антител.

В исследовании было подтверждено (таблица 13), что наиболее информативными методами для диагностики *H. pylori* при всех клинических вариантах были морфологический метод и уреазный дыхательный тест (Ивашкин В.Т., 2003; Цодиков Г. В., 2006).

Таблица 13

Информативность методов диагностики *H. pylori* при *H. pylori* – ассоциированных заболеваниях по показателю общей точности, в процентах

Показатели	ХГН	ХГА	ЯБН	ЯБО
общей точности				
Морфологический	83,7	84,6	81,8	77,2
Уреазный	83,7	79,2	83,1	84,0
ПЦР	23,0	23,0	37,5	56,5
Иммунологический	55,5	55,5	53,4	55,5

Точность этих прямых методов была практически одинаковой и составила 81,8 % для морфологического метода и 82,5 % для уреазного теста.

Внедрение ПЦР – диагностики в гастроэнтерологическую практику в нашей стране только начинается. В связи с этим оценка диагностической точности этого метода при *H. pylori* инфекции представляет особый интерес (таблица 14).

Таблица 14

Информативность ПЦР у больных с вариантами геликобактерной инфекции

Показатели	Чувствительность, %	ДИ	Специфичность, %	ДИ	Общая точность, %
ХГН	83,3	53-100	100	96-100	23,0
ХГА	83,3	53-100	100	96-100	23,0
ЯБН	91,7	76-100	100	96-100	37,5
ЯБО	96,1	89-100	100	96-100	56,5

Анализ таблицы показал, что информативность метода полимеразной цепной реакции отличалась при разных вариантах геликобактерной инфекции. Оптимальные характеристики метода с учетом чувствительности, специфичности и доверительного интервала определялись при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, особенно тяжелого течения.

Установлено, что по показателю общей точности ПЦР занимает лишь третью позицию среди анализируемых нами прямых методов выявления *H. pylori*, представленных таблице 17, но такая важная характеристика как специфичность метода, для ПЦР была выше в сравнении с другими методами диагностики и составила 100%, что устраняет возможность ложноположительного результата тестирования. Показатели специфичности других методов диагностики *H. pylori* по значимости распределились в следующем порядке – морфологический 95%, иммунологический – 85%, уреазный – 80%.

Более того, нами показано, что ПЦР позволяет выявить генетический материал *H. pylori* не только в слизистой оболочке желудка, но и в зубо-десневом кармане. Наличие такого очага установлено у 16,3% обследованных. Особую ценность этот метод может приобрести в контроле эрадикационной терапии, т.к. иногда очаг инфекции в ротовой полости у больных сохраняется после проведенного лечения.

Особый интерес для изучения патогенеза, оптимизации диагностики и лечения при разных клинических вариантах *H. pylori*-ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны представляет создание математических моделей, позволяющих дискриминировать эти заболевания на основе исследования факторов риска, клинических, морфологических и иммунологических параметров.

Для выявления наиболее значимых факторов из 80 показателей в формировании отдельных вариантов *H. pylori*-ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны был использован корреляционный, регрессионный и эконометрический анализ. После выявления значимых показателей была построена множественная пробит-модель прогноза с качественными переменными. Далее, на основе этой модели были разработаны формулы для каждого варианта изучаемой *H. pylori*-ассоциированной патологии: неатрофического, атрофического гастрита, язвенной болезни двенадцатиперстной кишки неосложненного и осложненного течения, где

Y₁ – хронический неатрофический гастрит;

Y₂ – хронический атрофический гастрит;

Y₃ – язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки неосложненного течения;

Y₄ – язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки осложненного течения

$$Y_1 = @CNORM(-0.5094988912-I_Y)$$

$$Y_2 = @CNORM(0.6046672192-I_Y) - @CNORM(-0.5094988912-I_Y)$$

$$Y_3 = @CNORM(2.795672119-I_Y) - @CNORM(0.6046672192-I_Y)$$

$$Y_4 = 1 - @CNORM(2.795672119-I_Y)$$

Проверка модели на 32 случаях, включавших здоровых лиц и больных, не вошедших в группу при разработке модели, показала значимость всех коэффициентов созданной модели на уровне 75%, условие максимума правдоподобия было выполнено. Вероятность правильной классификации больных с хроническим неатрофическим гастритом составила - 82,5%, с хроническим атрофическим гастритом - 79,2%, с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки неосложненного течения 83,1%, с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки осложненного течения – 82,1%. Общая мощность модели 79,8%.

Таким образом, на основе проведенного эконометрического анализа выявлены универсальные факторы, характер изменения которых является определяющим для формирования соответствующей формы клинической манифестации геликобактерной инфекции. На основании предложенных моделей можно постулировать важное патогенетическое значение в развитии каждой формы заболевания экспрессии проапоптогенного регуляторного белка эпителиоцитов, перераспределительное изменение количества лимфоцитов в циркуляции, а также вариации уровня конечных стабильных метаболитов оксида азота, флюктуации которых могут быть связаны с изменением активности индуцибельных синтаз под влиянием цитокинов в макрофагах, энтероцитах, гепатоцитах.

По завершении анализа результатов собственных исследований и создания диагностических моделей, все полученные нами данные были обобщены в виде схемы (рис. 4), в которой представлены выявленные этиологические факторы *H. pylori*-ассоциированных заболеваний, включая вирулентные и невирулентные генотипы, другие эндогенные и экзогенные факторы риска, а также патогенетически значимые механизмы развития этих заболеваний.

В схеме приводятся характерные и коррелирующие друг с другом изменения показателей системного и секреторного иммунитета при разных вариантах *H. pylori*-ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны, к которым относятся признаки иммуносупрессии на уровне клеточного и гуморального компарментов иммунной системы и снижение специфического антительного иммунного ответа на микроб при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, особенно при ее осложненных формах. Отражено повышение провоспалительного цитокинового потенциала на системном и топическом уровнях, а также формирование у части больных очага персистенции *H. pylori* за пределами слизистой оболочки желудка.

Оценка эффективности применения иммуномодулятора топического действия

Общепризнанное развитие иммуносупрессии на системном уровне, подтвержденное в наших исследованиях, выявление персистенции *H. pylori* в ротовой полости и определение высокого флогогенного потенциала в слюне явилось основанием для применения в комплексном лечении больных наряду со стандартной эрадикационной терапией иммуномодулятора топического действия, оказывающего преимущественный эффект на состояние мукозального иммунитета, но параллельно способствующее развитию иммунного ответа со стороны всех компарментов иммунной системы.

При выполнении данного фрагмента работы в зависимости от способа лечения были сформированы две группы больных, сопоставимые по возрасту, анамнезу, клинико – иммунологической

характеристике и базовой терапии, что позволило считать эти группы однородными. Распределение больных проводилось методом случайных чисел. Первая группа (традиционное лечение – эрадикационная терапия + плацебо) включала - 52 человека, средний возраст $40,3 \pm 1,56$ года. Вторая группа (традиционное лечение - эрадикационная терапия + имудон) - 45 человек. Средний возраст – $39,6 \pm 2,74$ года. В обеих группах больных, получавших и традиционную, и комплексную терапию, до начала лечения были констатированы повышенные показатели sIgA, лактоферрина, белка, муцина, фактора некроза опухоли, интерлейкина – 6, 8 в слюне в сравнении с контрольной группой, что отражает иммунозависимые процессы воспаления.

Эффективность проведенного лечения представлена в таблице 15. Критериями клинической эффективности было исчезновение болевого и диспептического синдрома (при отличном эффекте – полное купирование болевого и диспептического синдрома, при хорошем – исчезновение болевого синдрома с изредка возникающими эпизодами диспепсии, при удовлетворительном – частое присутствие диспептических явлений).

Как видно из таблицы, клинические критерии эффективности в группе, получавшей комплексную терапию с имудоном сразу после проведенного курса лечения имели тенденцию к лучшим показателям, чем при стандартном лечении.

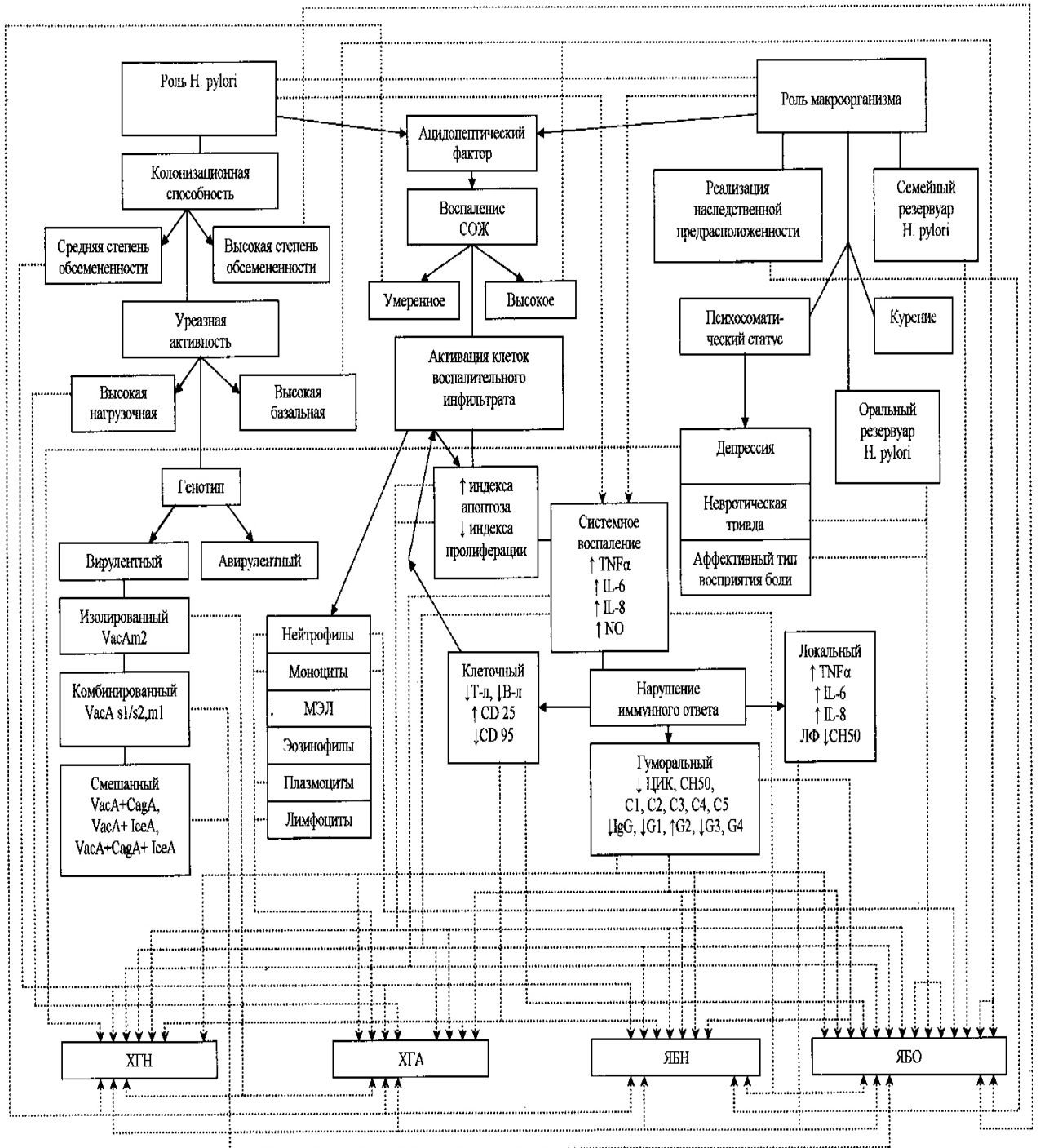


Рисунок 4. Этиологические и патогенетически значимые факторы в развитии *H. pylori*-ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны

Эффективность лечения больных с *H. pylori* - ассоциированными заболеваниями

№	Показатели в %	Традиционная терапия	Комплексная терапия	p
1	Клинический эффект отличный	69,2	73,3	>0,05
2	Клинический эффект хороший	23,1	22,2	>0,05
3	Клинический эффект удовлетворительный	7,7	4,4	>0,05
4	Эрадикация <i>H. pylori</i> в слизистой оболочке желудка	88,4	93,3	>0,05
5	Эрадикация <i>H. pylori</i> в зубодесневом кармане	66,6	75	>0,05
4	Частота рецидивов в течение года	13,4	4,4	<0,001

Полная клиничко – эндоскопическая ремиссия была достигнута в 88, 4 % случаев в группе больных, получавших традиционную терапию и у 93,3% больных на фоне комплексной терапии, без достоверных различий.

Достоверно лучшие результаты после комплексной терапии были получены в отдаленные сроки, в течение года после проведенного лечения. Число рецидивов после комплексной терапии оказалось существенно ниже ($p < 0,001$).

Для определения механизма влияния комплексной терапии, нами изучены показатели секреторного иммунитета слюны до и после курса традиционного и комплексного лечения (таблица 16).

Таблица 16

Динамика показателей иммунограммы слюны и верификат достоверности изменений у группы больных с геликобактерной инфекцией под влиянием традиционной и комплексной терапии

Показатели	1 группа традиционная терапия n= 52		2 группа комплексная терапия n= 45		W критерий Вилкоксона	p4
	Значение	p	Значение	p		
sIgA, мкг/мл	135,52±12,57	p1<0,05	136,5±11,751	p1>0,05	12	>0,05
	137,01±12,37	p2>0,05	134,79±13,41	p2<0,05	124	>0,05
		p3>0,05		p3>0,05		
ЛФ нг/мл	412,75±58,24	p1<0,01	405,38±60,29	p1<0,001	215	>0,05
	338,91±61,83	p2<0,01	158,18±18,99	p2<0,001	560	<0,01
		p3>0,05		p3<0,01		

CH50	29,52±0,96	p1>0,0 5	29,27±0,76	p1>0 ,05	171	>0,05
	30,69±0,8 9	p2>0,0 5	31,78±0,6 7	p2>0 ,05	487	<0,01
C1	2,01±0,20	p1>0,0 5	3,04±0,38	p1>0 ,05	533	<0,01
	2,85±0,24	p2>0,0 5	3,11±0,69	p2>0 ,05	159	>0,05
C2	1,95±0,27	p3>0,0 5	2,30±0,25	p3>0 ,05	439	<0,05
	2,96±0,38	p1>0,0 5	2,21±0,20	p2>0 ,05	72,5	>0,05
C3	1,96±0,27	p3>0,0 5	3,19±0,51	p3>0 ,05	101,5	>0,05
	2,44±0,28	p1>0,0 5	2,67±0,34	p2>0 ,05	29	>0,05
C4	1,96±0,28	p3>0,0 5	2,18±0,23	p3>0 ,05	208	>0,05
	2,08±0,29	p1>0,0 5	2,41±0,23	p2>0 ,05	50,8	>0,05
C5	2,05±0,27	p3>0,0 5	2,26±0,22	p3>0 ,05	153	>0,05
	1,71±0,18	p1>0,0 5	2,23±0,18	p2>0 ,05	225	>0,05
Белок , мг%	245,09±17,81	p3>0,0 5	241,75±11,84	p3>0 ,05	220	>0,05
	261,92±15 ,57	p1<0,0 1	226,67±16 ,13	p2>0 ,05	139	>0,05
Муци н, мг%	55,72±5,0 0	p3>0,0 5	50,38±3,7 5	p3>0 ,05	304	>0,05
	60,16±3,2 7	p1<0,0 5	63,49±2,5 6	p2<0 ,01	546	<0,01
TNFα , пг/мл	17,78±1,17	p3>0,0 5	17,78±1,17	p3<0 ,01	6	>0,05
	8,69±2,03	p1<0,0 01	4,25±0,88	p2<0 ,001	196	<0,05

ИЛ-6, пг/мл	16,67±2,65	p1<0,0 01 p2<0,0 1 p3>0,0 5	14,79±1,24	p1<0 ,001 p2<0 ,001 p3<0 ,05	91	>0,05
	14,66±1,9 8		9,16±1,46		317	<0,05
ИЛ-8, пг/мл	67,85±15,40	p1<0,0 5 p2>0,0 5 p3>0,0 5	68,23±13,6	p1<0 ,05 p2>0 ,05 p3>0 ,05	175	>0,05
	59,09±19, 31		55,68±18, 53		130	>0,05

Достоверность между показателями: p1- группы больных до лечения и контролем; p2 – группы больных после лечения и контролем; p3 – группы больных до лечения и после лечения;

в числителе приведены данные до лечения, в знаменателе – после лечения

p 4 – верификат достоверности изменений показателей слюны по критерию Вилкоксона; в числителе приведены показатели достоверности результатов традиционной терапии, в знаменателе – комплексной терапии

После комплексной терапии с включением имудона получено достоверное повышение показателей комплементарной активности слюны (с $29,27 \pm 0,76$ до $31,78 \pm 0,67$ усл. ед., $W = 487$, $p < 0,01$), содержания антиколониционного фактора муцина (с $50,38 \pm 3,75$ до $63,49 \pm 2,56$ мг%, $W = 546$, $p < 0,01$), снижение количества провоспалительных цитокинов TNF α (с $17,78 \pm 1,17$, пг/мл до $4,25 \pm 0,88$ пг/мл, $W = 196$, $p < 0,05$), IL-6 (с $14,79 \pm 1,24$ пг/мл до $9,16 \pm 1,46$ пг/мл, $W = 317$, $p < 0,05$). Подобной динамики со стороны флогенных цитокинов при использовании традиционной терапии не наблюдалось.

В целом общая направленность изменения иммунологических показателей слюны под влиянием комплексного лечения отражает снижение флогенного потенциала секреторного иммунитета и повышение протективных свойств слюны.

Таким образом, фундаментальное значение проведенных исследований состоит в обосновании обоюдной значимости вирулентных свойств микроорганизма и характера ответа иммунной системы макроорганизма в развитии определенных клинически манифестных форм

H. pylori – ассоциированных заболеваний гастродуоденальной зоны, что потребовало применения и внедрения методов молекулярной биологии для индикации и генотипической идентификации *H. pylori*. Важным теоретическим и практическим аспектом работы является выявление очагов персистенции *H. pylori* в зубо-десневом кармане, что отражает тотальное снижение противомикробной резистентности на уровне слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта. Определение особенностей иммунного ответа при разных клинических вариантах заболевания на уровне клеточного, гуморального и секреторного компартментов иммунной системы и оценка эффективности применения имудона в комплексном лечении заболевания стало патогенетическим обоснованием перспективности топической иммунокоррекции при *H. pylori*-ассоциированных заболеваниях гастродуоденальной зоны.

ВЫВОДЫ:

1. С помощью метода полимеразной цепной реакции в биоптатах слизистой оболочки желудка у больных с клиническими вариантами заболеваний гастродуоденальной зоны установлены разные по вирулентности генотипические варианты *Helicobacter pylori*: при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки - вирулентный генотип определялся в 92% случаев, при хроническом неатрофическом и атрофическом гастрите вирулентные генотипы *Helicobacter pylori* не определялись. При язвенной болезни двенадцатиперстной кишки неосложненного течения выявлен изолированный (*vacA m2*) и комбинированный (*vacA s1/s2*) генотипы в 23% случаев, при осложненном течении - комбинированный (*vacAs1/s2*; *vacAs1/s2 + vacAm1+ vacAm2*; *vacAs1/s2 + vacA m2*) и смешанный (*vacAs1/s2+cagA*, *vacAs1/s2+iceA2*, *vacAm1+ cagA + iceA2*) генотипы установлены в 77% образцов.

2. При анализе частоты выявления факторов риска у пациентов с неатрофическим, атрофическим гастритом и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки неосложненного и осложненного течения в качестве ведущих факторов риска развития более тяжелых клинических форм *Helicobacter pylori*-ассоциированных заболеваний установлены эндогенные и экзогенные агенты, расположенные на основании убывания значений показателя отношения шансов (ОШ) следующим образом: неблагоприятные условия труда (ОШ=28,8), интенсивное и длительное табакокурение (ОШ=25,5), отягощенная наследственность по *Helicobacter pylori*-ассоциированным заболеваниям (ОШ=3,2), группа крови 0_{αβ} (ОШ=3,2).

3. В клинической картине неатрофического *Helicobacter pylori*-ассоциированного гастрита отмечено достоверное преобладание язвенноподобного варианта диспепсии (70%), при хроническом гастрите с атрофией – дискинетического варианта диспепсии (44%). Количественная оценка болевого синдрома по шкале Мак – Гила регистрирует преобладание параметров боли при атрофическом гастрите по показателям сенсорной (ИДСШ 3,75±0,33 в

сравнении 2,0±0,1, ИРСШ 6,0±0,56 в сравнении с 4,0±0,27) и аффективной шкалы (ИДАШ 2,5±0,17 в сравнении с 2,0±0,13) в сравнении с неатрофическим гастритом. Все параметры боли при осложненном течении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, достоверно превышали показатели при неосложненном течении. Особенностью оценки болевого синдрома пациентами, у которых персистировали вирулентные генотипы *Helicobacter pylori*, является превышение показателей боли по индексу дескрипторов и индексу рангов сенсорной шкалы.

4. Максимально выраженные морфологические изменения слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки обнаруживаются у больных при колонизации слизистых мембран вирулентными генотипами *Helicobacter pylori*, о чем свидетельствует достоверное превалирование высокой степени активности воспаления и его иммуноопосредованной компоненты, выраженность деструктивных изменений (большие, гигантские, множественные язвы), дисбаланс процессов пролиферации и апоптоза эпителиоцитов.

5. Диагностический алгоритм при *Helicobacter pylori* - ассоциированных заболеваниях гастродуоденальной зоны, основанный на результатах стандартных методов выявления возбудителя (морфологическом, уреазном), может быть дополнен использованием метода полимеразной цепной реакции, максимальные показатели информативности которого составили по чувствительности 96,1 %, по специфичности 100 % и общей точности 56,5%. Метод полимеразной цепной реакции позволяет идентифицировать генотип микроорганизма, а также выявить внежелудочные очаги персистенции.

6. При *Helicobacter pylori* - ассоциированных заболеваниях гастродуоденальной зоны на уровне клеточного компартмента иммунной системы наблюдается снижение количества лимфоцитов с уменьшением общей численности Т- хелперов и Т- цитотоксических лимфоцитов, нарушением соотношения процессов позитивной и негативной активации лимфоцитов, усилением процессов апоптоза иммуноцитов, зависящих от вирулентных генотипов *Helicobacter pylori*, а также от изменения процессов цитокин- и нитроксидергической регуляции. В гуморальном компартменте регистрируется существенное снижение уровня сывороточных иммуноглобулинов класса IgA, IgG и противомикробных субклассов IgG1, IgG3, специфических антигеликобактерных антител, особенно при наличии вирулентных генотипов возбудителя.

7. Изменения секреторного иммунитета у больных *Helicobacter pylori* – ассоциированными заболеваниями гастродуоденальной зоны, оцениваемые по показателям слюны, характеризуются значительным усилением провоспалительного потенциала, что проявляется многократным ростом в слюне уровня флогенных цитокинов TNF α , IL-6, IL- 8, сохраняющимся после курса традиционной терапии, при отсутствии признаков иммуносупрессии.

8. Наряду с установлением достоверной корреляционной связи этиологических факторов, клинических симптомов, морфологических изменений слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, характера иммунного ответа при *Helicobacter pylori* – ассоциированных заболеваниях, с помощью эконометрического анализа выделены универсальные факторы, позволяющие на основе разработанных моделей дифференцировать с точностью от 79,2% до 82,5% разные манифестные формы заболеваний: хронический неатрофический и атрофический гастрит, язвенную болезнь двенадцатиперстной кишки неосложненного и осложненного течения.

9. Включение топического иммуномодулятора имудон в комплексную терапию *Helicobacter pylori*-ассоциированных заболеваний приводит к снижению флогенного потенциала за счет снижения количества TNF α , IL-6 и к повышению протективных свойств слюны в результате увеличения уровня муцина, достоверно снижает частоту рецидивов в течение года после проведенной терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки характера течения заболевания и в дальнейшем для выработки оптимальной тактики лечения при обследовании больных с *Helicobacter pylori* - ассоциированными заболеваниями гастродуоденальной зоны (хронический гастрит, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки) необходимо учитывать особенности макроорганизма (неблагоприятный семейный анамнез, действующие факторы риска, психосоциальный статус, характер и выраженность болевого синдрома). Следует оценивать также вирулентные свойства микроорганизма (уреазная активность, генотип штамма).

2. Для оптимизации диагностики *Helicobacter pylori* - ассоциированных заболеваний следует внедрять метод полимеразной цепной реакции, позволяющий выявлять очаги персистенции микроорганизма в зубо-десневом кармане.

3. Для организации эпидемиологического мониторинга *Helicobacter pylori* инфекции необходимо проводить идентификацию генотипов микроорганизма на основе ДНК-типирования.

4. Для своевременной диагностики вторичной иммунной недостаточности при *Helicobacter pylori*-ассоциированных заболеваниях необходимо исследовать состояние клеточного (показатели позитивной и негативной активации лимфоцитов крови), гуморального иммунитета (специфические антитела к *Helicobacter pylori*, содержание иммуноглобулинов класса А, М, G и субклассов, комплементарная активность, активность компонентов комплемента). Для оценки уровня иммунозависимого воспаления у пациентов целесообразно определение уровня цитокинов в сыворотке крови и/или слюне (TNF α , IL-6, IL-8).

5. Для повышения эффективности лечения больных *Helicobacter pylori*-ассоциированными заболеваниями в схему традиционной терапии необходимо включать препарат имудон, оказывающий противовоспалительный и протективный эффект в дозе по 2 таблетки для рассасывания в полости рта 4 раза в день в течение 10 дней.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Сарсенбаева А.С. Особенности иммунного статуса больных при осложненных формах язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / А. С. Сарсенбаева, С. Н. Теплова, Г. Л. Игнатова // Известия Челябинского научного центра. – [http.csc. ac. ru.](http://csc.ac.ru)- 2001.- Вып. 3. - №12. – С. 101 –105.
2. Сарсенбаева А.С. Изучение вирулентных свойств инфекции *Helicobacter pylori* у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки по уреазной активности / А.С. Сарсенбаева // Труды научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицинской науки и практического здравоохранения». – Трехгорный. - 2003. – С.99 -101.

3. Сарсенбаева А.С. Показатели качества жизни у больных с осложненными и неосложненными формами язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / А.С. Сарсенбаева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2004. - №1. – С. 178.
4. Генотипирование штаммов *Helicobacter pylori* у больных гастрит – ассоциированной язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки / А.С. Сарсенбаева, Г.Л. Игнатова, С.Н. Теплова, С.В. Воротникова // Материалы научно-практической конференции Челябинской областной общественной организации врачей – терапевтов. – Челябинск. – 2004. – С.131-132
5. Генотипирование штаммов *Helicobacter pylori* у больных с хроническим гастритом и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки / А.С. Сарсенбаева, С.В. Воротникова, Л.И. Бахарева с соавт. // Материалы конференции «Современные проблемы диагностики и лечения дисбактериозов» - Челябинск -2004. – С.45 - 46.
6. Сарсенбаева А.С. Факторы риска осложнений (кровотечений) при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / А.С. Сарсенбаева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология . – 2004. - №5. – С. 15-20
7. Воротникова С.В. Факторы риска формирования хронического гастрита, язвенной болезни и инфицирования *Helicobacter pylori* / С.В. Воротникова, А.С. Сарсенбаева // Материалы V съезда научного общества гастроэнтерологов России. – Москва. - 2005. – С.62- 64
8. Сарсенбаева А.С. Апоптоз лимфоцитов периферической крови при геликобактерной инфекции /А.С. Сарсенбаева, С.В. Воротникова // Материалы V съезда научного общества гастроэнтерологов России. – Москва. - 2005. – С.150-151
9. Сарсенбаева А.С. Факторы вирулентности *Helicobacter pylori* при тяжелых формах язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / А.С. Сарсенбаева, С.В. Воротникова // Материалы V съезда научного общества гастроэнтерологов России. – Москва. - 2005. – С.153-154
10. Сарсенбаева А.С. Особенности инфекции *Helicobacter pylori* и характер иммунного ответа у больных при тяжелых формах язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / Сарсенбаева А.С. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. - № 6. – С.73 -75
11. Сарсенбаева А.С. Апоптоз клеток слизистой оболочки желудка и лимфоцитов крови при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, осложненной кровотечением / А.С. Сарсенбаева, С.Н. Теплова // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2005. - №2 .-С. 105-109
12. Сарсенбаева А.С. Методы диагностики инфекции *Helicobacter pylori* (учебное пособие) / А.С. Сарсенбаева, Г.Л. Игнатова, С.В. Воротникова. - Челябинск.- ООО УралМедИнфо». - 2005. - 27с.
13. Сарсенбаева А.С. Роль вирулентных штаммов *Helicobacter pylori* в формировании осложнений язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / А. С. Сарсенбаева // Известия Челябинского научного центра. – <http://csc.ac.ru>.- 2005.- Вып.2. - № 28. – С. 121 –124.
14. Воротникова С.В. Оценка факторов риска и выраженности болевого синдрома у больных с хроническим гастритом и язвенной болезнью / С. В. Воротникова, А. С. Сарсенбаева //

- Проблемы геронтологии, нейроиммунологии. Организация медицинской помощи ветеранам войн. Межрегиональный сборник научных работ. Том 2. – Издательство Татьяны Лурье. – 2005. – С. 100-104.
15. Теплова С.Н. Оценка процессов позитивной и негативной активации лимфоцитов при геликобактерной инфекции гастродуоденальной зоны / С. Н. Теплова, С. В. Воротникова, А. С. Сарсенбаева // Проблемы геронтологии, нейроиммунологии. Организация медицинской помощи ветеранам войн. Межрегиональный сборник научных работ. Том 2. – Издательство Татьяны Лурье. – 2005. – С. 104-107.
 16. Сарсенбаева А.С. Особенности инфекции *Helicobacter pylori* при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки тяжелого течения / А. С. Сарсенбаева, С. Н. Теплова, С. В. Воротникова // Проблемы геронтологии, нейроиммунологии. Организация медицинской помощи ветеранам войн. Межрегиональный сборник научных работ. Том 2. – Издательство Татьяны Лурье. – 2005. – С. 107-110.
 17. Сарсенбаева А.С. Прогноз осложнений язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *Helicobacter pylori* / А. С. Сарсенбаева, С. В. Воротникова, Н. Г. Крушина // Проблемы геронтологии, нейроиммунологии. Организация медицинской помощи ветеранам войн. Межрегиональный сборник научных работ. Том 2. – Челябинск. Издательство Татьяны Лурье. – 2005. – С. 111-113.
 18. Игнатова Г. Л. Клеточное обновление в слизистой оболочке желудка и цитокиновый профиль при вариантах геликобактерной инфекции / Г. Л. Игнатова, С.Н. Теплова, А.С. Сарсенбаева // Современные технологии и проблемы поликлинической помощи. - Челябинск. Изд-во Иероглиф. – 2005. – с. 129-133.
 19. Сарсенбаева А.С. Современные подходы к эрадикации *Helicobacter pylori* при заболеваниях желудка и двенадцатиперстной кишки (учебное пособие) /А.С. Сарсенбаева, Г.Л. Игнатова, С.В. Воротникова. - Челябинск. ООО УралМедИнфо» – 2005. – 38 с.
 20. Сарсенбаева А.С. Особенности морфологических изменений слизистой оболочки желудка при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки в зависимости от генотипа *Helicobacter pylori* / А. С. Сарсенбаева, Г. Л. Игнатова, С. Н. Сидоренко // Актуальные вопросы медицины. Материалы научно-практической конференции, посвященной 67-летию юбилею Челябинской областной клинической больницы - Челябинск. Изд-во «РЕКПОЛ»- 2005.- с. 242-243
 21. Игнатова Г.Л. Психологический профиль больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и хроническим гастритом / Г. Л. Игнатова, А. С. Сарсенбаева, С. Н. Теплова // Актуальные вопросы медицины. Материалы научно-практической конференции, посвященной 67-летию юбилею Челябинской областной клинической больницы - Челябинск. Изд-во «РЕКПОЛ»-2005.- с. 211-212.
 22. Генотипы *Helicobacter pylori* при клинических вариантах язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / Г. Л. Игнатова, А. С. Сарсенбаева, Л. И. Бахарева с соавт. //

- Сборник научных работ. Актуальные проблемы медицинской науки, технологий и профессионального образования. Том первый.- 2005.- С.148 – 150.
23. Влияние препарата имудон на иммунологические показатели слюны у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки /А.С. Сарсенбаева, С. Н. Теплова, Г.Л. Игнатова, Н. А. Неведеева // Материалы 6 съезда научного общества гастроэнтерологов России. – Москва. - 2006. – С. 58-59.
 24. Состояние процессов клеточного обновления в слизистой оболочке желудка и лимфоцитов крови при вариантах геликобактерной инфекции / Г. Л. Игнатова, А. С. Сарсенбаева, С. Н. Теплова, С. В. Федоренко // Вестник Южноуральского государственного университета. – Челябинск. – 2006. – №4, Том 1 - С. 79-82.
 25. Сарсенбаева А. С. Процессы активации и апоптоза лимфоцитов при разных клинических вариантах *Helicobacter pylori* –ассоциированной инфекции / А.С. Сарсенбаева, С.Н. Теплова, Г.Л. Игнатова // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2005 – №4.- С. 77-80..
 26. Сарсенбаева А. С. Оценка психосоматического статуса у больных с хроническим гастритом и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки /А. С. Сарсенбаева, Г. Л. Игнатова // Последипломное медицинское образование и наука.- 2006. – №1.- С. 18-19.
 27. Определение *Helicobacter pylori* в зубодесневом налете у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *Helicobacter pylori* / А. С. Сарсенбаева, С. Н. Теплова, Л. И. Бахарева с соавт.// Последипломное медицинское образование и наука.- 2006. – №1.- С. 19 – 20.
 28. Оценка эффективности препарата Имудон в комплексном лечении язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *Helicobacter pylori* /А. С. Сарсенбаева, С. Н. Теплова, Г. Л. Игнатова, Н. А. Неведеева // Последипломное медицинское образование и наука.- 2006. – №1.- С. 20 - 21.
 29. Сарсенбаева А. С. Препарат имудон как компонент комплексной терапии язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *Helicobacter pylori* /А. С. Сарсенбаева, С. Н. Теплова, Г. Л. Игнатова // Здоровоохранение на путях его устойчивого развития. Сб. научно – практических работ, посвященных 70 – летию главного врача ГКБ №9 Саевца Н. В.; Челябинск. - 2006. – с. 306 – 310.
 30. Новые подходы к коррекции нарушений локального иммунитета /А. С. Сарсенбаева, С. Н. Теплова, Г. Л. Игнатова, Н. А. Неведеева // Сб. трудов, посвященных 70-летию юбилею МУЗГКБ № 4 г. Челябинска. – 2006.- С. 97-100.
 31. Теплова С. Н. Роль микробных агентов и макроорганизма в развитии *Helicobacter pylori* инфекции / С. Н. Теплова, А. С. Сарсенбаева, Г. Л. Игнатова.. – Екатеринбург: УрО РАН – 2006. – 188 с.

Список авторских свидетельств и патентов на изобретения по теме диссертации:

1. Сарсенбаева А. С., Игнатова Г. Л., Сарсенбаев Б. Х. Способ прогнозирования осложнений язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *Helicobacter pylori*. Патент № 2200325 от 10 марта 2003 г.

Библиотека литературы по функциональной гастроэнтерологии:

www.gastroscan.ru/literature