

**СИНЯКОВ
АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ**

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И
ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ-АНТИОКСИДАНТНОЙ
ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ГАСТРИТАМИ,
АССОЦИИРОВАННЫМИ С HELICOBACTER PYLORI - ИНФЕКЦИЕЙ**

14.03.03 - патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» (г. Красноярск) и Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск)

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук

Смирнова Ольга Валентиновна

Научный консультант:

Доктор биологических наук

Даренская Марина Александровна

Официальные оппоненты:

Семинский Игорь Жанович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патологической физиологии с курсом клинической иммунологии, заведующий

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, Федеральное казённое учреждение здравоохранения «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория патофизиологии, заведующая

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова» (г. Абакан)

Защита состоится «__»_____ 2018 года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 001.038.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» по адресу: 664003, г. Иркутск, Тимирязева, 16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» и на сайте <http://health-family.ru>.

Автореферат разослан «__»_____ 2018 года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Гребенкина Людмила Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Одним из наиболее распространенных заболеваний населения земного шара является хронический гастрит (ХГ), причем по данным ВОЗ заболеванием страдают более 80% населения (Успенский Ю.П. и др., 2016; Malfetheriner P. et al., 2016). К наиболее опасной форме относится хронический атрофический гастрит (ХАГ), который является провоцирующим фактором возникновения и прогрессирования метапластических и диспластических изменений стенок желудка (Sugano K. et al., 2015). Причем, если неатрофический гастрит увеличивает вероятность данного рода изменений в 4 раза, то атрофический – уже в 15 раз (Wang J. et al., 2011).

Считается, что основным патогенетическим фактором возникновения хронического гастрита является инфекция *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), причем степень его выраженности зависит от вирулентности штаммов *H. pylori* (Ивашкин В.Т. и др., 2017). Установлено, что наличие данной инфекции способствует развитию глубоких дистрофических и атрофических изменений слизистой оболочки желудка (СОЖ) (Прихода, И.В. и др., 2009). Имеются исследования о возможном канцерогенном влиянии *H. pylori* (Yamaoka Y., 2010). Выяснено, что степень выраженности структурных изменений слизистой оболочки желудка при ХГ, ассоциированным с *H. pylori* инфекцией зависит от генетической предрасположенности и индивидуального ответа организма на инфицирование (Sonnenberg A., 2013). На сегодняшний день существует большое количество исследований, посвященных изучению иммунного ответа в ответ на инфицирование *H. pylori* (Саранчина Ю.В., 2015; Muller A. et al, 2011; Graham D.Y., 2015). Так, выяснено, что клетками иммунной системы, в ответ на инфицирование *H. pylori*, продуцируются цитокины (IL-1 β , IL-8, IL-18, MCP-1), привлекая Th1-лимфоциты (IL-1 β , IL-8, IL-18, MCP-1). Благодаря активированным лимфоцитам происходит развитие клеточного иммунного ответа, направленного на уничтожение патогена. Вследствие того, что *H. pylori* способна ингибировать действие макрофагов, элиминации бактерии не происходит, что способствует развитию хронического воспаления (Саранчина Ю. В и др., 2014).

Активная воспалительная реакция в слизистой оболочке желудка в условиях обсемененности *H. pylori* характеризуется повышенным содержанием IL-8 (Степченко А.А., 2009). Однако, несмотря на расширение исследований иммунного статуса при ХГ, до сих пор остаются не ясными механизмы, препятствующие саногенетическим реакциям со стороны иммунной системы.

Большой интерес представляют также исследования, направленные на изучение перекисного окисления липидов и активности антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) при хронических гастритах, ассоциированных с *H. pylori*. В настоящее время отсутствуют исследования, в которых проводилась бы комплексная оценка взаимодействия иммунных нарушений с изменениями функционирования про- и антиоксидантного статуса организма в условиях развития ХГ. Выяснено, что частота изменений слизистой оболочки желудка на фоне гастрита и их выраженность повышаются с возрастом больного, а также во многом зависят от места и условий проживания людей, что четко связано с инфицированностью *H. pylori* (Вернигородский С.В., 2014). Согласно каскаду Корреа мужчины среднего возраста входят в группу риска по инфицированности *H. pylori*. В связи с чем, изучение иммунологических и метаболических аспектов патогенеза ХГ и

ХАГ, ассоциированных с *H. pylori* - инфекцией у мужчин среднего возраста позволит осуществлять не только прогноз течения, но и разработать патогенетически обоснованные способы коррекции *H. pylori*-ассоциированных заболеваний.

Цель работы - выявить закономерности изменений показателей иммунной системы, процессов липопероксидации и их взаимосвязей у мужчин, больных хроническим гастритом и хроническим атрофическим гастритом без и в сочетании с *H. pylori* - инфекцией для патогенетического обоснования принципов профилактики и коррекции.

Для решения поставленной цели последовательно решались следующие **задачи**:

1. Установить особенности изменений клеточного и гуморального звеньев иммунитета у мужчин, больных хроническим гастритом, хроническим атрофическим гастритом без и в сочетании с *H. pylori* – инфекцией.
2. Определить активность спонтанной и индуцированной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов у мужчин, больных хроническим гастритом, хроническим атрофическим гастритом без и в сочетании с *H. pylori* – инфекцией.
3. Оценить уровень некоторых цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-8, ИЛ-4, TNF- α , INF- γ) у пациентов с хроническим гастритом, хроническим атрофическим гастритом без и в сочетании с *H. pylori* – инфекцией.
4. Изучить особенности состояния системы “перекисное окисление липидов-антиоксидантная защита” у мужчин, больных хроническим гастритом, хроническим атрофическим гастритом без и в сочетании с *H. pylori* – инфекцией.
5. Провести анализ характера взаимосвязей показателей иммунной регуляции и ПОЛ-АОЗ системы у пациентов исследуемых групп.
6. Установить наиболее информативные показатели иммунной и ПОЛ-АОЗ систем у мужчин, больных хроническим гастритом, хроническим атрофическим гастритом без и в сочетании с *H. pylori* - инфекцией с целью обоснования патогенетической коррекции выявленных нарушений.

Научная новизна

Впервые у мужчин, больных хроническим гастритом, хроническим атрофическим гастритом без и в сочетании с *H. pylori* установлены нарушения реактивности иммунной системы и системы перекисного окисления липидов - антиоксидантной защиты, свидетельствующие о развитии воспалительного процесса при *H. pylori* - ассоциированных гастритах.

Новыми являются данные о том, что у пациентов с хроническим гастритом с *H. pylori*, хроническим атрофическим гастритом без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией отмечается угнетение активности Т-клеточного звена иммунитета в виде снижения рап-маркеров Т-лимфоцитов и их субпопуляций, нарушений процессов активации лимфоцитов.

Приоритетными являются данные о наличии у мужчин, больных хроническим атрофическим гастритом без и в сочетании с *H. pylori* – инфекцией выраженных нарушений функциональных свойств нейтрофильных гранулоцитов, проявляющихся увеличением времени их активации, при этом хемилюминесцентная активность нейтрофилов не изменена при хроническом гастрите и увеличена при хроническом атрофическом гастрите вне зависимости от инфицированности *H. pylori*.

Впервые показано, что у мужчин с ХГ и ХАГ выявляются определенные особенности цитокиновой регуляции в виде активации иммунитета по Th1-типу, у

пациентов с ХГ и ХАГ в сочетании с *H. pylori*-инфекцией - активации иммунитета по Th1- и Th2-механизмам.

Впервые доказано, что наличие *H. pylori*-инфекции в группах пациентов с хроническим гастритом и хроническим атрофическим гастритом характеризуется более выраженными изменениями в системе перекисного окисления липидов - антиоксидантной защиты, что сопровождается накоплением первичных и конечных продуктов липопероксидации на фоне резкой недостаточности антиоксидантных компонентов – супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы и восстановленной формы глутатиона в сравнении с контролем и пациентами, не инфицированными *H. pylori*. Использование для оценки степени выраженности прооксидантных процессов интегративного коэффициента подтверждает развитие антиоксидантной недостаточности в исследуемых группах пациентов.

Впервые установлены наиболее значимые показатели иммунной регуляции и системы липопероксидации у мужчин с ХГ и ХАГ без и при наличии *H. pylori*-инфекции, позволяющие рекомендовать комплексный дифференцированный подход к проведению коррекционных мероприятий у данного рода пациентов.

На основе полученных результатов разработана концептуальная схема изменений иммунной и ПОЛ-АОЗ систем у пациентов с ХГ, ХАГ без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в результате исследования данные расширяют фундаментальные представления о патогенетических механизмах *H. pylori*-ассоциированных заболеваний.

Изменения в гуморальном и клеточном звеньях иммунитета у мужчин с ХГ, ХАГ без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией могут являться дополнительными критериями оптимизации диагностики и лечения больных в зависимости от вида патологического состояния.

Учитывая патогенетическую значимость дисбаланса иммунной регуляции, системы перекисного окисления липидов в обеспечении резистентности при прогрессировании ХГ и ХАГ, ассоциированных с *H. pylori*, необходима своевременная диагностика иммунных нарушений, проявлений окислительного стресса и их эффективная коррекция с помощью иммуномодуляторов и средств антиоксидантной терапии.

Основные положения работы внедрены в учебный процесс кафедры медицинской биологии Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета.

Методология и методы исследования Исследование включало определение основных популяций и субпопуляций иммунных клеток (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺, CD25⁺, CD95⁺, HLA-DR – клеток) методом непрямой иммунофлюоресценции; основных цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-8, ИЛ-4, TNF- α , интерферон- γ) и основных классов иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG, IgE) методом твердофазного иммуноферментного анализа; хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов и активности системы липопероксидации спектрофотометрическим методом. Указанные методы были применены при обследовании 63 мужчин среднего возраста контрольной группы, 58 пациентов с хроническим гастритом, 61 больного хроническим гастритом с *H. pylori*, 28 пациентов с хроническим атрофическим гастритом и 26 больных хроническим атрофическим гастритом с *H. pylori*.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Нарушения иммунорезистентности, цитокиновой регуляции и дисбаланс в системе перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты являются важными, взаимозависимыми патогенетическими механизмами развития и прогрессирования *H. pylori*-ассоциированных заболеваний.
2. Важную роль в прогрессировании заболеваний, ассоциированных с *H. pylori*-инфекцией у мужчин, играют нарушения молекулярных и клеточных механизмов иммунного статуса: угнетение Т-клеточного звена иммунитета, нарушения процессов активации лимфоцитов, однонаправленные изменения в гуморальном звене иммунитета, увеличение хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов, нарушения соотношения про- и противовоспалительных цитокинов.
3. Наиболее информативными показателями, позволяющими рекомендовать комплексный дифференцированный подход к проведению коррекционных мероприятий у мужчин с ХГ, ХАГ без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией являются: уровень NK - клеток у пациентов ХГ с *H. pylori*; концентрация CD19⁺ - лимфоцитов, IgG, NK – клеток, ИЛ-2, интерферон- γ и MDA - у пациентов с ХАГ в сочетании с *H. pylori*-инфекцией.

Степень достоверности

Положения, выносимые на защиту и выводы обоснованы достаточным объемом исследований, выполненных с использованием современных методов и сертифицированного оборудования. Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета современных статистических компьютерных программ.

Апробация результатов

Основные положения диссертационного исследования представлены и обсуждены на научно-практических конференциях молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири» (Красноярск 2014, 2015, 2016), на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Дни иммунологии в Сибири» (Новосибирск 2015), Международной научно-технической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Молодежь и наука: проспект Свободный 2016» (Красноярск 2016), XIX конференции молодых ученых КНЦ СО РАН (Красноярск 2016), на 22 объединенной российской гастроэнтерологической неделе (Москва 2016), XXIXth International Workshop (Magdeburg, Germany, 2016), на 16 – ой Сибирской гастроэнтерологической конференции «Современные проблемы предраковых и онкологических заболеваний пищеварительного тракта» и 2-ой Бурятской гастроэнтерологической конференции «Современные принципы диагностики и лечения гастроэнтерологических заболеваний» (Улан – Удэ 2016), на 17-ой Сибирской гастроэнтерологической конференции «Современные проблемы предраковых и онкологических заболеваний пищеварительного тракта» (Иркутск 2017) и на 20 межрегиональной научно-практической конференции, «Актуальные проблемы медицины» (Абакан 2017).

Личный вклад автора

Автору работы принадлежит ключевая роль в проведении биохимических исследований, обобщении и интерпретации полученных результатов, апробации результатов исследования, подготовке основных публикаций по выполненной работе.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 17 работ, из них 12 статей в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, определенных ВАК Минобрнауки и науки РФ.

Структура и объем диссертации

Материал диссертации изложен на 123 страницах машинописного текста, иллюстрирован 9 рисунками, 10 таблицами. Работа состоит из введения, четырех глав, выводов и списка использованной литературы. Список литературы состоит из 258 источников, в том числе 154 отечественных и 104 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на базе НИИ медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН (директор – д.м.н., профессор Э.В. Каспаров) в лаборатории клинической патофизиологии (зав. лабораторией – д.м.н. О.В. Смирнова) в период с 2013 по 2015 годы. Клиническое обследование мужчин, больных ХГ и ХАГ на фоне *H. pylori* осуществлялось в гастроэнтерологическом отделении НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН. Для решения поставленных задач нами были обследованы 236 мужчин в возрасте от 45 до 59 лет (средний возраст $48 \pm 4,7$ лет).

В исследование не включались пациенты с ВИЧ - инфекцией, страдающие гепатитом, туберкулезом, с язвенной болезнью желудка, имеющие сопутствующие острые и хронические заболевания в фазе обострения, находящиеся на терапии антибактериальными и нестероидными противовоспалительными препаратами, глюкокортикостероидами. Так же из исследования исключались пациенты отказавшиеся принять участия в научном исследовании.

Контрольную группу (группа №1) составили 63 мужчины (средний возраст - $48,7 \pm 3,9$ лет) без гастроэнтерологических жалоб и гастроэнтерологического анамнеза, без изменений СОЖ, с уровнем пепсиногена-1 в сыворотке крови более 50 мкг/л и соотношением пепсиноген-1/пепсиноген-2 более 3, проходящих плановую диспансеризацию в НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН. При отборе обследованных в контрольную группу, помимо вышеизложенных, одним из критериев являлось отсутствие на момент обследования *H. pylori*.

Группу пациентов, страдающих хроническим гастритом (группа №2), составили 58 мужчин (средний возраст - $46,3 \pm 1,9$ лет). Диагноз “хронический гастрит” устанавливался врачом гастроэнтерологом при обследовании впервые на основании эпидемиологических, клинических данных и подтвержден нормальным содержанием пепсиногенов в сыворотке крови методом ИФА и воспалительными изменениями слизистой оболочки большой и малой кривизны тела желудка при фиброэзофагогастродуоденоскопии, отсутствие *H. pylori*.

Группу пациентов, страдающих хроническим гастритом с *H. pylori*-инфекцией (группа №3), составил 61 мужчина (средний возраст - $50,4 \pm 3,9$ лет). Помимо критериев включения, характерных для группы №2, обязательным являлось наличие у пациентов *H. pylori*.

Группу пациентов, страдающих хроническим атрофическим гастритом (группа №4), составили 28 мужчин (средний возраст - $51,2 \pm 4,9$ лет). Диагноз выставлен врачом гастроэнтерологом при обследовании впервые на основании эпидемиологических, клинических данных и подтвержден серологическим исследованием пепсиногенов методом ИФА и атрофическими изменениями слизистой оболочки большой и малой кривизны тела желудка с использованием модифицированной Сиднейской классификации при фиброэзофагогастродуоденоскопии. Диагноз выраженного атрофического гастрита слизистой оболочки тела желудка ставили при уровне пепсиногена-1 менее 25 мкг/л и

значении отношения пепсиноген-1/пепсиноген-2 менее 3 с морфологическими признаками атрофических изменений СОЖ, полученной в результате прицельной биопсии, отсутствие *H.pylori*. Если значение пепсиногена-1 было от 25 до 50 мкг/л, при отношении пепсиноген-1/пепсиноген-2 более 3 с морфологическими признаками атрофии СОЖ – расценивали, как легкая и средняя степени атрофии тела желудка.

Группу пациентов, страдающих хроническим атрофическим гастритом с *H. pylori*-инфекцией (группа №5), составили 26 мужчин (средний возраст - 49,1±4,4 лет), Помимо критериев включения, характерных для группы №4, обязательным являлось наличие у пациентов *H.pylori*.

Во всех группах пациентов, а также в контрольной группе, выявляли наличие *H. pylori* методом ИФА с помощью определения титра специфических антител к антигену CagA *H. pylori*. Титры антител от 30 EIU и более считали положительным результатом, менее 30 EIU - отрицательным результатом определения *H. pylori*. Таким образом, были определены группы без *H. pylori* и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией.

Исследование проводилось с разрешения этического комитета НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН. В работе с обследованными пациентами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2008, Сеул).

Лабораторные методы исследования. При исследовании иммунного статуса использовался метод непрямой иммунофлуоресценции лимфоцитов с помощью моноклональных антител к CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺, CD25⁺, CD95⁺, HLA-DR⁺. (ТОО «Сорбент» г. Москва). Концентрацию иммуноглобулинов классов А, М, Е и G в сыворотке крови определяли иммуноферментным анализом (ИФА). Уровни ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, TNF-α, интерферона-γ в сыворотке крови больных и здоровых лиц определяли ИФА с использованием наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). В качестве метода изучения активности нейтрофильных гранулоцитов использовался хемилюминесцентный анализ спонтанной и индуцированной продукции АФК НГ. Оценку спонтанной и индуцированной хемилюминесценции осуществляли в течение 90 минут на биофлуориметрическом анализаторе БЛМ - 3607. Использовались спектрофотометрические методы определения показателей ПОЛ-АОЗ (Stocker R. et al., 2011). Регистрировали содержание первичных (диеновые конъюгаты) и конечных (малоновый диальдегид) продуктов липопероксидации. Об активности АОЗ судили по содержанию основных ее компонентов (активности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатион-S-трансферазы, глутатионпероксидазы, церулоплазмينا).

Способы статистической обработки полученных результатов. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft Inc., США, 2008) и Microsoft Excel, 2007 (Microsoft, США). Вследствие неправильного распределения выборки, оценку различий количественных показателей между группами проводили с использованием критерия Манна–Уитни. Приводили следующие описательные характеристики: медиану (Me) и интерквартильный размах (C₂₅-C₇₅). Для анализа внутригрупповых взаимосвязей количественных признаков использовали метод Спирмена. Для выбора наиболее информативных лабораторных показателей был использован многофакторный дискриминантный анализ. Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате анализа результатов было получено, что медианы относительных и абсолютных показателей клеточного иммунитета у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* снижались по сравнению с группой больных ХГ и контрольной группой ($CD3\%$ - $p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$), ($CD3^+$, $10^9/л$ - $p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$) (таблица 1). Медиана относительного показателя $CD4^+$ -клеток у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* была ниже по сравнению с группой больных ХГ и контрольной группой ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$).

Абсолютное количество $CD4^+$ - лимфоцитов также было снижено у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно группы больных ХГ и контрольной группы ($p_{1-3}=0,02$; $p_{2-3}=0,02$; $p_{1-4}=0,01$; $p_{2-4}=0,01$; $p_{3-4}=0,03$; $p_{1-5}=0,01$; $p_{2-5}=0,01$; $p_{3-5}=0,03$). Абсолютное содержание $CD8^+$ -лимфоцитов уменьшалось у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно группы больных ХГ и контрольной группы ($p_{1-3}=0,045$; $p_{2-3}=0,045$; $p_{1-4}=0,04$; $p_{2-5}=0,04$; $p_{1-5}=0,04$; $p_{2-5}=0,04$). Данный факт можно связать с наличием длительного воспалительного процесса уже на стадии хронического гастрита с *H. pylori* инфекцией.

Абсолютное содержание $CD16^+$ - клеток было увеличено у больных ХГ по сравнению со всеми исследуемыми группами ($p_{1-2}=0,048$; $p_{2-3}=0,045$; $p_{2-4}=0,04$; $p_{2-5}=0,04$). У больных ХАГ без *H. pylori* и ХАГ с *H. pylori* абсолютное содержание $CD16^+$ - клеток снижалось относительно контрольной группы ($p_{1-4}=0,04$; $p_{1-5}=0,04$). Подобного рода изменения можно связать с неэффективностью функционирования Т – лимфоцитов в процессе элиминации инфекции, а также развитием синдрома иммунной недостаточности при наличии хронического воспаления. Относительное и абсолютное количество $CD25^+$ и $CD95^+$ - клеток снижалось у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно группы больных ХГ и контрольной группы. Данные результаты показывают, что ранняя активация Т-лимфоцитов нарушена уже на стадии хронического гастрита и сохраняется при хроническом атрофическом гастрите в сочетании с *H. pylori*-инфекцией. Медиана относительного количества HLA-DR-клеток снижалась у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно группы больных ХГ и контрольной группы ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$ и $p_{2-5}<0,001$). Абсолютное количество HLA-DR-клеток снижалось у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно группы больных ХГ и контрольной группы, за счет значительного уменьшения эффекторных Т-лимфоцитов уже на стадии ХГ в сочетании с *H. pylori*-инфекцией ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$).

По данным ряда авторов уменьшение субпопуляций лимфоцитов происходит под действием индуцируемого *H. pylori* апоптоза, что приводит к формированию иммунологической недостаточности (Агеева Е. С. и др., 2011). Сниженное количество лимфоцитов может быть обусловлено угнетением процессов лимфопролиферации. Причиной данного процесса можно рассматривать недостаточность активирующего сигнала, связанного с низким уровнем продукции активирующих цитокинов, либо с гиперпродукцией ингибирующих цитокинов (Агеева Е. С. и др., 2011). Следовательно, можно предположить неполноценность Т-хелперного звена иммунной защиты при активации супрессорной активности цитотоксических Т-лимфоцитов и возрастании содержания НК-клеток, для которых характерен неиммунный цитолиз (Дворкин М. И., 2012).

Таблица 1

Показатели больных ХГ и ХАГ без и в сочетании с *H.pylori*-инфекцией относительно контрольной группы (Me, C₂₅-C₇₅)

Показатели	Контрольная группа, N=63 (1)		ХГ N=58 (2)		ХГ с <i>H. pylori</i> N=61 (3)		ХАГ N=28 (4)		ХАГ с <i>H. pylori</i> N=26 (5)	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Лейкоциты, (10 ⁹ /л)	5,7	4,82–7,47	5,5	4,92–7,4	4,65	3,3-5,0	4,1	3,3-4,6	4,1	3,3-4,6
Лимфоциты, (%)	38,2	32,2-44,9	38,6	32,2-44,9	28,0	27,00–39,00	28,0	23,00–34,00	28,0	23,00–34,00
CD3 ⁺ , (%)	66	60,0–72,0	62	59,0–70,0	55,0	49,0-57,0	53,0	49,0-58,0	54,0	49,0-58,0
					p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001	
CD4 ⁺ , (%)	45,0	34,0–48,75	41,0	36,0–45,5	30,0	25,0-34,0	32,0	22,0-34,0	30,0	20,0-36,00
					p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001	
CD8 ⁺ , (10 ⁹ /л)	0,6	0,31–1,13	0,53	0,31–1,13	0,47	0,35-0,56	0,33	0,41-0,75	0,46	0,41-0,75
					p ₁₋₃ =0,045; p ₂₋₃ =0,045		p ₁₋₄ =0,04; p ₂₋₄ =0,04		p ₁₋₅ =0,04; p ₂₋₅ =0,04	
CD16 ⁺ , (10 ⁹ /л)	0,43	0,26 – 0,77	0,55	0,46 – 0,87	0,31	0,24-0,48	0,24	0,1-1,0	0,24	0,1-1,0
			p ₁₋₂ =0,048		p ₂₋₃ =0,045		p ₁₋₄ =0,04; p ₂₋₄ =0,04		p ₁₋₅ =0,04; p ₂₋₅ =0,04	
CD19 ⁺ , (%)	13,5	9,0 – 15,75	14,3	10,1 – 16,7	17,0	14,0-21,0	18,0	14,0-28,0	16,0	15,0-24,0
CD25 %	22,0	14,8–27,6	20,0	16,4–29,3	12,0	8,0-16,0	11,0	9,0-15,0	10,0	8,0-16,0
					p ₁₋₃ =0,01; p ₂₋₃ =0,01		p ₁₋₄ =0,01; p ₂₋₄ =0,01		p ₁₋₅ =0,01; p ₂₋₅ =0,01	
CD95%	56	34,0-67,0	55	34,0-67,0	8,0	6,0-12,0	11,0	7,0-13,0	10,0	6,0-12,0
					p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001	
HLA-DR ⁺ , (%)	15,0	12,0-20,0	14,0	12,0-20,0	0,12	0,06-0,21	5,0	2,0-8,0	4,0	2,0-8,0
					p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001	

Примечание: p₁₋₂ – статистически значимые различия между группой больных ХГ без *H.pylori* и контрольной группой. p₁₋₃ – статистически значимые различия между группой больных ХГ с *H.pylori* и контрольной группой, p₁₋₄ – статистически значимые различия между группой больных ХАГ без *H.pylori* и контрольной группой, p₁₋₅ – статистически значимые различия между группой больных ХАГ с *H.pylori* и контрольной группой. p₂₋₃ – статистически значимые различия между группой больных ХГ без *H.pylori* и группой больных ХГ с *H.pylori*, p₂₋₄ – статистически значимые различия между группой больных ХГ без *H.pylori* и группой больных ХАГ без *H.pylori*, p₂₋₅ – статистически значимые различия между группой больных ХГ без *H.pylori* и группой больных ХАГ с *H.pylori*. p₃₋₄ – статистически значимые различия между группой больных ХГ с *H.pylori* и группой больных ХАГ без *H.pylori*, p₃₋₅ – статистически значимые различия между группой больных ХГ с *H.pylori* и группой больных ХАГ с *H.pylori*. p₄₋₅ – статистически значимые различия между группой больных ХАГ без *H.pylori* и группой больных ХАГ с *H.pylori*.

Таким образом, можно сделать заключение о наличии у больных с ХГ с *H. pylori*, ХАГ без и в сочетании с *H. pylori* -инфекцией тяжелых изменений в состоянии клеточного звена иммунитета, в сравнении с группами ХГ без *H. pylori* и контрольной группой.

При анализе гуморального звена иммунитета было обнаружено, что у больных ХГ, ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* происходит повышение концентрации IgA по сравнению с контрольной группой ($p_{1-2}=0,04$; $p_{1-3}=0,02$; $p_{1-4}=0,001$; $p_{1-5}=0,001$) (таблица 2).

У больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* отмечалось повышение содержания IgG относительно группы больных ХГ и контрольной группы ($p_{1-3}=0,03$; $p_{2-3}=0,02$; $p_{1-4}=0,02$; $p_{2-4}=0,01$; $p_{1-5}=0,01$; $p_{2-5}=0,02$). Функция IgG заключается в антибактериальной защите и усиливает цитотоксические свойства макрофагов. В настоящее время доказано, что его продукция к антигенам *H. pylori* является малоэффективной, так как IgG не способен проходить через слизистый барьер в просвет желудка, следовательно, взаимодействия антител с бактерией не происходит. Таким образом, несмотря на активацию продукции специфических антител, гуморальный иммунитет при хроническом, хроническом атрофическом гастритах в сочетании с *H. pylori* - инфекцией неэффективен, так как не происходит достаточной элиминации патогена.

При исследовании цитокиновой регуляции у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* нами отмечалось повышение медианы интерлейкина-2 ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$) (таблица 2), повышение медианы интерлейкина-8 ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$) по сравнению с группой больных ХГ и контрольной группой. У больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* происходило повышение медианы интерферона-гамма относительно больных ХГ и контрольной группы ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$). У больных ХГ с *H. pylori* и ХАГ с *H. pylori* медиана интерлейкина-4 повышалась по сравнению с группой больных ХГ без *H. pylori*, ХАГ без *H. pylori* и контрольной группой ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{3-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$; $p_{4-5}<0,001$). Кроме того, у больных ХГ происходило увеличение медианы интерлейкина-2 по сравнению с контрольной группой ($p_{1-2}=0,01$).

Таким образом, у больных ХГ и ХАГ происходило повышение провоспалительных цитокинов, что свидетельствовало о Th1-опосредованном иммунном ответе. В группах больных ХГ с *H. pylori* и ХАГ с *H. pylori* отмечалось увеличение провоспалительных (ИЛ-2, интерферон- γ , ИЛ-8) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4), что может указывать на активацию и дисбаланс системы цитокиновой регуляции. Увеличение продукции цитокинов Th1 и Th2- хелперов, свидетельствует об активации иммунитета по Th1 и Th2 – типам при хроническом гастрите, хроническом атрофическом гастрите, ассоциированном с *H. pylori*. При инфицировании *H. pylori* происходит стимуляция секреции целого ряда цитокинов, которые в свою очередь способствуют привлечению иммунокомпетентных клеток, развитию воспалительных изменений, происходит увеличение инфекционной нагрузки, что еще больше усложняет процесс восстановления организма.

Таблица 2

Содержание иммуноглобулинов и цитокинов у больных ХГ и ХАГ без и в сочетании с *H.pylori*-инфекцией относительно контрольной группы (Me, C₂₅-C₇₅)

Показатели	Контрольная группа N=63 (1)		ХГ N=58 (2)		ХГ с <i>H. pylori</i> N=61 (3)		ХАГ N=28 (4)		ХАГ с <i>H. pylori</i> N=26 (5)	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
IgA, (г/л)	2,4	1,44 – 3,6	3,9	3,5 – 6,3	4,7	3,4-6,5	5,1	4,2-7,41	5,54	3,9-7,34
			p ₁₋₂ =0,04		p ₁₋₃ =0,02		p ₁₋₄ =0,001		p ₁₋₅ =0,001	
IgM, (г/л)	1,31	0,6 – 2,38	1,37	0,6 – 2,41	1,15	0,35-2,9	1,3	0,6-2,7	1,29	0,7-2,87
IgG, (г/л)	14,85	8,8 – 17,8	14,7	8,8 – 18,2	18,8	13,7-33,57	20,3	12,4-37,6	20,4	12,57-30,1
					p ₁₋₃ =0,03; p ₂₋₃ =0,02		p ₁₋₄ =0,02; p ₂₋₄ =0,01		p ₁₋₅ =0,01; p ₂₋₅ =0,02	
IgE, (МЕ/мл)	50,0	10,0-71,0	51,0	10,0-74,0	45,6	18,2-89,3	47,2	26,1-92,3	49,7	25,9-102,3
ФНО-альфа (пг/мл)	0,54	0,38-0,87	0,58	0,38-0,87	0,67	0,44-0,93	0,78	0,56-1,3	0,78	0,56-1,3
ИЛ-2 (пг/мл)	1,1	0,5-3,05	3,2	3,5-5,05	5,7	3,6-10,3	4,7	3,4-6,5	4,9	3,8-9,5
			p ₁₋₂ =0,01		p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001	
ИЛ-8 (пг/мл)	2,1	0,5-4,0	4,2	3,5-7,4	40,5	7,5-97,2	35,5	5,9-73,1	38,1	5,5-87,3
					p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001	
Интерферон-γ (пг/мл)	0,6	0,22-4,0	1,9	0,6-4,0	2,9	2,2-4,0	3,1	2,5-4,3	3,2	2,3-4,8
					p ₁₋₃ < 0,001		p ₁₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001	
ИЛ-4 (пг/мл)	7,0	5,6-7,8	6,7	4,6-8,8	86,8	76,8-103,5	7,4	5,2-9,3	91,4	73,2-112,3
					p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ <0,001		p ₃₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001; p ₄₋₅ <0,001	

Примечание: см. Таблица 1

В нашем исследовании медиана интенсивности спонтанной (I_{\max} спон.) хемилюминесценции (ХЛ) увеличивалась у больных ХАГ, ХАГ с *H. pylori* по сравнению с больными хроническим гастритом, ХГ с *H. pylori*, а также контрольной группой ($p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{3-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$; $p_{3-5}<0,001$) (таблица 3). Медиана времени выхода на максимум при спонтанной (T_{\max} спон.) ХЛ в исследуемых группах также увеличивалась относительно группы больных ХГ и контрольной группы ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$). Кроме того, происходило увеличение времени выхода на максимум у больных ХАГ и ХАГ с *H. pylori* по сравнению с больными ХГ с *H. pylori* ($p_{3-4}<0,001$; $p_{3-5}<0,001$). Следующим показателем хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов являлась площадь под кривой (S_{\max} спон.).

Медиана площади под кривой спонтанной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов (НГ) была увеличена в группах больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* по сравнению с группой больных ХГ и контрольной группой ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$), также у больных ХАГ и ХАГ с *H. pylori* наблюдалось увеличение площади под кривой спонтанной ХЛ НГ по сравнению с ХГ с *H. pylori* ($p_{3-4}<0,001$; $p_{3-5}<0,001$). Медиана интенсивности индуцированной (I_{\max} инд.) ХЛ НГ резко увеличивалась у больных ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно ХГ, ХГ с *H. pylori* и контрольной группы ($p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{3-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$; $p_{3-5}<0,001$). Было зафиксировано увеличение медианы времени выхода на максимум при индуцированной (T_{\max} инд.) ХЛ у больных ХАГ и ХАГ с *H. pylori* в сравнении с ХГ, ХГ с *H. pylori* и контрольной группой ($p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{3-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$; $p_{3-5}<0,001$). Медиана площади под кривой индуцированной (S_{\max} инд.) ХЛ НГ была увеличена в группе больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* по сравнению с группой больных ХГ и контрольной группой ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$), также было выявлено увеличение площади под кривой индуцированной ХЛ НГ у больных ХАГ с *H. pylori* по сравнению с больными ХГ с *H. pylori* ($p_{3-5}<0,001$). Медиана индекса активации увеличена в группах больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* по сравнению с группой больных ХГ и контрольной группой ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$; $p_{1-4}=0,03$; $p_{2-4}=0,03$; $p_{1-5}=0,03$; $p_{2-5}=0,03$), но при этом индекс активации снижался у больных ХАГ с *H. pylori* по сравнению с ХГ с *H. pylori* ($p_{3-5}<0,001$). Таким образом, у больных ХГ в сочетании с *H. pylori*-инфекцией происходит повышение времени выхода на максимум при спонтанной ХЛ, площади под кривой ХЛ и индекса активации нейтрофильных гранулоцитов относительно контрольной группы. В группах больных ХАГ и ХАГ в сочетании с *H. pylori*-инфекцией выявляется повышение интенсивности свечения спонтанной и индуцированной ХЛ НГ, времени выхода на максимум, площади под кривой при спонтанной и индуцированной ХЛ НГ, индекса активации НГ по сравнению с контрольной группой. Все эти изменения могут указывать на увеличение продукции активных форм кислорода, закономерно происходящих в условиях инфекционной нагрузки.

При изучении процесса ПОЛ-АОЗ было выявлено увеличение медианы ДК у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно группы больных ХГ и контрольной группы ($p_{1-3}=0,04$; $p_{2-3}=0,047$; $p_{1-4}=0,03$; $p_{2-4}=0,03$; $p_{1-5}=0,03$; $p_{2-5}=0,03$). Медиана малонового диальдегида в плазме у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* возрастала по сравнению с группой больных ХГ и контрольной группой ($p_{1-3}=0,02$; $p_{2-3}=0,02$; $p_{1-4}=0,001$; $p_{2-4}=0,01$; $p_{1-5}=0,001$; $p_{2-5}=0,01$) (таблица 4).

Таблица 3

Показатели хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных ХГ и ХАГ без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией относительно контрольной группы (Me, C₂₅-C₇₅)

Показатели	Контрольная группа N=63 (1)		ХГ N=58 (2)		ХГ с <i>H. pylori</i> N=61 (3)		ХАГ N=28 (4)		ХАГ с <i>H. pylori</i> N=26 (5)	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
I _{max} спон. (y.e.)	19133	3054-27134	19153	3097-29154	21594	29935-4160	22083	3047-41528	22151,1	3456-41726
							p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001; p ₃₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001; p ₃₋₅ <0,001	
T _{max} спон. (сек.)	969	615-1753	1169	625-1958	1531	930-2041	1817	989-2379	1919	1029-2569
					p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001; p ₃₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001; p ₃₋₅ <0,001	
S _{qur} спон. (*10 ⁶)	0,22	0,15-0,54	0,28	0,17-0,59	3	0,9-4,7	3,1	0,9-3,5	3,1	1,09-4,9
					p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001; p ₃₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001; p ₃₋₅ <0,001	
I _{max} инд. (y.e.)	34940	10488-41588	35940	11659-40487	40329	22205-41661	50231	21341-71041	55269	24967-71740
							p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001; p ₃₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001; p ₃₋₅ <0,001	
T _{max} инд. (сек.)	1380,8	796-1586	1480,8	896-1624	1544	985-1715	1683	1051-1960	1683	1101-2096
							p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001; p ₃₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001; p ₃₋₅ <0,001	
S _{qur} инд. (*10 ⁶)	0,4	0,15-0,95	0,52	0,15-0,95	3,1	0,51-5,9	3,9	0,2-8,3	5	0,28-10,3
					p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001;		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001; p ₃₋₅ <0,001	
Индекс активации	1,3	0,9-2,0	1,5	0,9-2,0	2,61	1,01-3,02	2,1	1,8-2,7	1,86	1,4-2,49
					p ₁₋₃ <0,001; p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ =0,03; p ₂₋₄ =0,03;		p ₁₋₅ =0,03; p ₂₋₅ =0,03; p ₃₋₅ <0,001	

*Примечание: см. Таблица 1

Далее была произведена оценка состояния системы АОЗ в группах больных. Было выявлено, что медиана значений супероксиддисмутазы в плазме уменьшалась у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно больных ХГ и контрольной группы ($p_{1-3}=0,006$; $p_{2-3}=0,004$; $p_{1-4}=0,004$; $p_{2-4}=0,003$; $p_{1-5}=0,001$; $p_{2-5}=0,005$). Медиана каталазы в плазме понижалась у больных ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно больных ХГ и контрольной группы ($p_{1-4}=0,03$; $p_{2-4}=0,03$; $p_{1-5}=0,03$; $p_{2-5}=0,03$). Медиана глутатион-S-трансферазы в плазме у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* снижалась по сравнению с группой больных ХГ и контрольной группой ($p_{1-3}=0,01$; $p_{2-3}=0,01$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{2-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{2-5}<0,001$). Концентрация глутатионпероксидазы в плазме уменьшалась в группах больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно контрольной группы ($p_{1-3}=0,041$; $p_{1-4}=0,034$; $p_{1-5}=0,029$).

Вероятно, снижение активности ферментов глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы может указывать на напряжение в системе антиоксидантной защиты. Кроме антиоксидантных ферментов в плазме крови присутствует ряд белков, обладающих антиоксидантными свойствами. Одним из важнейших антиоксидантных белков плазмы крови является церулоплазмин, медьсодержащий гликопротеин, проявляющий ферроксидазную и супероксидустраняющую активность (Zaitseva I. et al., 1996). Церулоплазмин ингибирует супероксидное и ферритин-зависимое перекисное окисление липидов в липопротеиновых частицах плазмы крови. Статистически значимых изменений в содержании церулоплазмينا в обследуемых группах относительно контрольной группы выявлено не было ($p>0,05$).

С целью более детальной и информативной оценки интенсивности липоперекисных реакций в группах больных хроническим гастритом, хроническим атрофическим гастритом без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией нами был использован коэффициент окислительного стресса. Данный коэффициент, представляющий собой отношение концентрации продуктов ПОЛ к факторам антиокислительной защиты, часто используется для оценки степени выраженности прооксидантных процессов при различных патологических состояниях (Колесникова Л.И. и др., 2011,2014,2016). В норме коэффициент окислительного стресса стремится к условной 1. Значение КОС >1 , рассматривают как нарастание степени окислительного стресса. Чем больше величина коэффициента окислительного стресса, тем более интенсивны процессы перекисаации липидов и менее эффективна система АОЗ. При оценке степени выраженности прооксидантных процессов у больных ХГ и ХАГ, а также ХГ и ХАГ, ассоциированных с *H. pylori*-инфекцией, получены следующие результаты: КОС при ХГ с *H. pylori* = 8,75, КОС при ХАГ = 15,5 и КОС при ХАГ с *H. pylori* = 22,4 (Рисунок 1). Таким образом, данные КОС подтвердили изменение интенсивности процессов липоперекисаации в зависимости от наличия или отсутствия инфекции. Причем у больных ХАГ, ХГ и ХАГ в сочетании с *H. pylori*-инфекцией выявляется усиление перекисного окисления липидов с развитием антиоксидантной недостаточности.

Для анализа внутри- и межсистемных отношений показателей систем иммунитета, цитокиновой регуляции и ПОЛ-АОЗ у больных ХГ, ХГ с *H. pylori*, больных ХАГ и ХАГ с *H. pylori* был проведен корреляционный анализ. Проведенное исследование показало наличие в контрольной группе мужчин среднего возраста 16 статистически значимых корреляционных связей, в группе больных ХГ – 5 положительных, в группе больных ХГ с *H. pylori* - 4 положительных, в группе больных ХАГ - 8 положительных, в группе больных ХАГ с *H. pylori* - 11 положительных зависимостей.

Таблица 4

Показатели системы ПОЛ-АОЗ у больных хроническим гастритом (ХГ) и хроническим атрофическим гастритом (ХАГ) без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией относительно контрольной группы (Ме, С₂₅-С₇₅)

Показатели	Контрольная группа N=63 (1)		Больные ХГ без <i>H. pylori</i> N=58 (2)		ХГ с <i>H. pylori</i> N= 61 (3)		ХАГ без <i>H. pylori</i> N= 28 (4)		ХАГ с <i>H. pylori</i> N= 26 (5)	
	Ме	С ₂₅ -С ₇₅	Ме	С ₂₅ -С ₇₅	Ме	С ₂₅ -С ₇₅	Ме	С ₂₅ -С ₇₅	Ме	С ₂₅ -С ₇₅
ДК мкмоль/л	1,15	0,88-1,38	1,21	1,88-2,3	2,4	1,24-2,1	2,6	1,5-2,41	2,7	1,5-2,41
					p ₁₋₃ =0,04; p ₂₋₃ =0,047		p ₁₋₄ =0,03; p ₂₋₄ =0,03		p ₁₋₅ =0,03; p ₂₋₅ =0,03	
MDA, мкмоль/ 1 г белка	1,6	0,96-2,24	1,7	0,92-2,24	2,1	1,42-2,8	2,24	1,48-3,08	2,32	1,9-3,5
					p ₁₋₃ =0,02; p ₂₋₃ =0,02		p ₁₋₄ =0,001; p ₂₋₄ =0,01		p ₁₋₅ =0,001; p ₂₋₅ =0,01	
SOD, ед/мин/ 1 г белка	204,41	151,05-250,3	209,4	133,5-232,2	187,6	141,6-223,3	179,5	161-219,8	177,5	164-220,4
					p ₁₋₃ =0,006; p ₂₋₃ =0,004		p ₁₋₄ =0,004; p ₂₋₄ =0,003		p ₁₋₅ =0,001; p ₂₋₅ =0,005	
САТ, мкмоль/с/ 1 г белка	0,27	0,16-0,39	0,2	0,11-0,3	0,18	0,12-0,29	0,16	0,1-0,31	0,13	0,1-0,23
							p ₁₋₄ =0,03; p ₂₋₄ =0,03		p ₁₋₅ =0,03; p ₂₋₅ =0,03	
GST, ммоль/мин / 1 г белка	41,3	37,7-42,64	40,1	27,7-42,4	28,2	24,9-51,7	24,6	13,5-45,5	22,6	12,5-50,1
					p ₁₋₃ =0,01; p ₂₋₃ =0,01		p ₁₋₄ <0,001; p ₂₋₄ <0,001		p ₁₋₅ <0,001; p ₂₋₅ <0,001	
GPO мкмоль// 1 г белка	107,9	81,19-162,38	105,5	81,19-162,3	95,02	68,9-102,1	87,5	70,1-104,05	84,5	62,1-100,5
					p ₁₋₃ =0,041		p ₁₋₄ =0,034		p ₁₋₅ =0,029	
СР мг/л	192,5	157,5-227,5	193,5	157,5-217,3	167,2	132,0-186,3	159,6	123,7-189,8	157,6	113,7-190,8

*Примечание: см. Таблица 1.

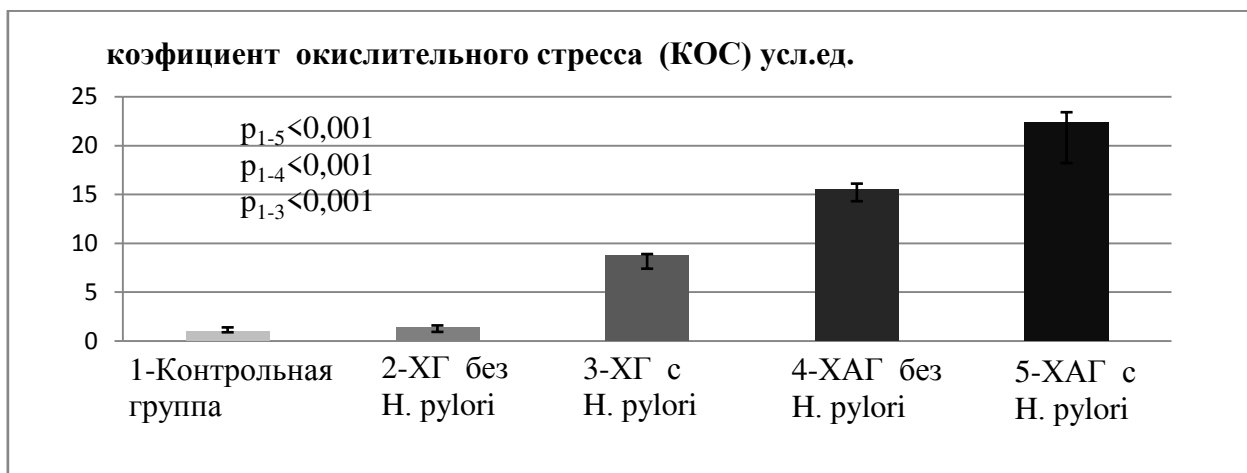


Рисунок 1 – Уровень коэффициента окислительного стресса у мужчин среднего возраста контрольной группы и больных хроническим гастритом и хроническим атрофическим гастритом без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией.

В группе больных ХГ происходит снижение количества корреляционных взаимосвязей: положительная связь между CD4⁺ и ИЛ-2 ($r=0,7$; $p=0,01$), CD4⁺ и INF- γ ($r=0,72$; $p=0,011$), ИЛ-2 и CD16⁺ ($r=0,73$; $p=0,03$), INF- γ и CD16⁺ ($r=0,78$; $p=0,02$) и IgA и IgG ($r=0,7$; $p=0,041$) (рис. 5). Данные закономерности указывают, что в условиях патологии важными являются взаимосвязи между Т-хелперами, цитокинами ИЛ-2 и INF- γ , которые в свою очередь взаимосвязаны с CD16⁺-клетками, а также иммуноглобулинами IgA и IgG.

В группе больных ХГ с *H. pylori* отмечалось снижение количества корреляционных взаимосвязей в сравнении с контролем: положительная связь между CD4⁺ и CD8⁺ ($r=0,7$; $p=0,01$), IgA и IgM ($r=0,84$; $p=0,011$), IgA и IgG ($r=0,81$; $p=0,041$) и IgM и IgG ($r=0,84$; $p<0,001$). Данные закономерности указывают, что в условиях патологии важными являются взаимосвязи между Т-хелперами, и различными иммуноглобулинами, направленными на элиминацию инфекционного агента и воспаления.

В группе больных ХАГ происходит увеличение количества связей, выявляются положительные корреляционные зависимости между CD3⁺ и CD4⁺ ($r=0,72$; $p=0,004$), CD3⁺ и MDA ($r=0,91$; $p=0,003$), CD3⁺ и ДК ($r=0,87$; $p=0,005$), ДК и MDA ($r=0,84$; $p=0,001$), CD4⁺ и CD19⁺ ($r=0,74$; $p=0,002$), CD19⁺ и IgA ($r=0,8$; $p=0,01$), IgA и IgM ($r=0,7$; $p=0,03$), IgM и IgG ($r=0,7$; $p=0,002$) (рис. 7). Данные закономерности указывают, что в условиях патологии важными являются взаимосвязи между Т-лимфоцитами, Т-хелперами, В-лимфоцитами и иммуноглобулинами.

В группе больных ХАГ с *H. pylori* происходило увеличение количества взаимосвязей, выявлялись положительные корреляционные зависимости между CD3⁺ и CD8⁺ ($r=0,8$; $p=0,03$), CD3⁺ и CD16⁺ ($r=0,83$; $p=0,014$), CD3⁺ и MDA ($r=0,75$; $p=0,05$), CD3⁺ и ДК ($r=0,81$; $p=0,03$), ДК и MDA ($r=0,87$; $p=0,01$), кроме того были обнаружены корреляционные закономерности между CD4⁺ и ДК ($r=0,74$; $p=0,004$), CD4⁺ и CD8⁺ ($r=0,75$; $p=0,02$), CD4⁺ и CD16⁺ ($r=0,75$; $p<0,001$), а также корреляционные взаимодействия между CD16⁺ и CD8⁺ ($r=0,71$; $p=0,01$). IgA и IgM ($r=0,73$; $p=0,02$), IgM и IgG ($r=0,74$; $p=0,023$).

Далее из всех исследуемых иммунологических и ПОЛ-АОЗ показателей были отобраны самые информативные для разграничения трех групп. Оценка информативности признаков проводилась по F-критерию Фишера при уровне значимости $p < 0,05$.

Для определения наиболее значимых иммунологических показателей, характеризующих ХГ и ХАГ с *H. pylori* был проведен дискриминантный анализ по методу Forward stepwise (Tolerance = 0,010, F to enter = 1,00, F to remove = 0,0, Number of steps = 10) с помощью дискриминантного анализа были выявлены наиболее значимые показатели клеточного, гуморального, неспецифического, цитокинового звеньев иммунитета и ПОЛ-АОЗ. Наиболее значимым параметром дискриминантной модели «Хронический гастрит – Хронический гастрит с *H. pylori*» является уровень НК-клеток. В итоге 92,8 % примеров классификатором были распознаны правильно.

Наиболее значимым параметром дискриминантной модели «Хронический гастрит – Хронический атрофический гастрит с *H. pylori*» являются уровни IgG, ИЛ-2, НК-клеток, интерферон- γ , содержание CD19⁺-клеток, и MDA (по убыванию). В итоге 94,8 % примеров классификатором были распознаны правильно.

Таким образом у больных ХГ с *H. pylori* найден 1 наиболее значимый показатель: НК-клетки. У больных ХАГ с *H. pylori* найдено 6 наиболее значимых показателей: ИЛ-2, интерферон- γ , НК-клетки, IgG, CD19⁺ и MDA. На основании полученных результатов был предложен новый способ диагностики хронического гастрита, ассоциированного с *Helicobacter pylori*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ иммунного статуса у мужчин с ХГ, ХАГ без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией позволил выявить ряд особенностей, характеризующих количественное содержание и функциональные изменения компонентов различных звеньев иммунитета, что в целом отражается на реализации иммунного ответа при наличии данного рода заболеваний. Продолжительное угнетение клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа, подавление фагоцитарной активности нейтрофилов, развитие окислительного стресса в совокупности будут способствовать персистенции инфекции, хронизации воспалительного процесса, дальнейшему развитию тяжелых атрофических изменений в слизистой оболочке желудка. На основании полученных результатов были выявлены ведущие патогенетические факторы, способствующие развитию *H. pylori*-ассоциированных заболеваний, которые могут быть использованы для разработки дифференцированного подхода в профилактике и лечении данного рода патологических состояний. Можно заключить, что при ХГ в сочетании с *H. pylori*-инфекцией воспаление носит длительный, вялотекущий характер, что обусловлено в большей степени недостаточной активностью НК-клеток. При ХАГ в сочетании с *H. pylori*-инфекцией развивается активная воспалительная реакция, затрагивающая все звенья иммунитета, цитокиновой регуляции, способствующая развитию окислительного стресса и тяжелой антиоксидантной недостаточности. Результаты проведенного анализа представлены в виде концептуальной схемы закономерностей изменений иммунной, цитокиновой регуляции и ПОЛ-АОЗ систем при ХГ, ХАГ без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией (рис. 2).

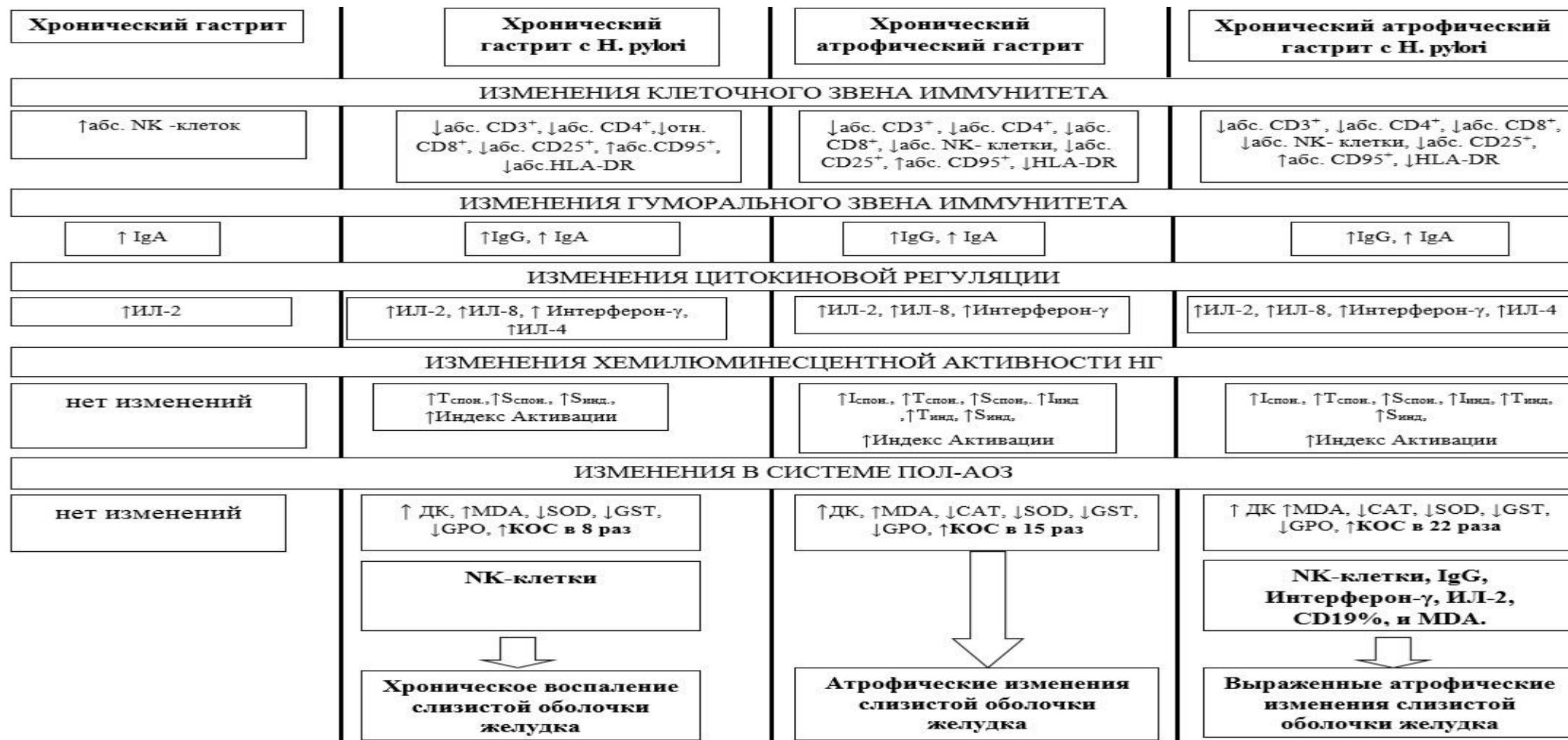


Рис. 2 Концептуальная схема изменений иммунной, цитокиновой и ПОЛ-АОЗ систем при хроническом, хроническом атрофическом гастритах, а также при хроническом и хроническом атрофическом гастритах ассоциированных с *H. pylori*-инфекцией.

ВЫВОДЫ

1. У мужчин с ХГ и ХАГ отмечаются изменения в клеточном звене иммунитета, которые заключаются в повышении уровня НК-клеток - у больных ХГ; снижении концентрации Т-зрелых клеток (на 17%), Т-хелперов (на 32%), цитотоксических лимфоцитов (на 13%), уровня НК-клеток (на 41%), а также нарушении процесса активации лимфоцитов - у больных ХАГ. В группах пациентов с ХГ и ХАГ, ассоциированных с *H. pylori*-инфекцией изменения в клеточном звене иммунитета характеризуются: снижением содержания НК-клеток (на 45% и 43%, соответственно), Т-зрелых клеток (на 17% и 19%, соответственно), Т-хелперов (на 34% в обеих группах), цитотоксических лимфоцитов (на 11% и 15%, соответственно) и наличием нарушений процесса активации лимфоцитов.
2. Изменения в гуморальном звене иммунитета у пациентов с ХГ состоят в повышении концентрации IgA (на 17%), у больных ХАГ – увеличении уровня IgA (на 32%) и IgG (на 46%). У больных ХГ и ХАГ с *H. pylori* изменения носят однонаправленный характер в виде повышенных значений IgA (на 23% и 36%, соответственно) и IgG (на 43% и 45%, соответственно).
3. У больных ХАГ имеет место увеличение времени активации нейтрофилов, о чем свидетельствуют увеличение времени выхода на максимум кривой хемилюминесценции НГ, значения площади под кривой индуцированной и спонтанной хемилюминесценции, при этом хемилюминесцентная активность НГ увеличивается (на 13%); у пациентов, больных ХГ с *H. pylori* отмечается увеличение времени выхода на максимум кривой ХЛ НГ, продукция активных форм кислорода, при этом хемилюминесцентная активность не изменена при ХГ и увеличена при ХАГ с *H. pylori*-инфекцией (на 15%).
4. У мужчин, больных ХГ отмечается повышение уровня провоспалительного цитокина (ИЛ-2 в 2 раза), у больных ХАГ – увеличение значений провоспалительных цитокинов (ИЛ-2 в 4 раза; ИЛ-8 в 17 раз и интерферон- γ , в 3 раза), при этом у больных ХГ и ХАГ происходит активация иммунитета по Th1 – типу. У больных ХГ и ХАГ с *H. pylori* наблюдается повышение провоспалительных (ИЛ-2 в 5 раз у больных ХГ, в 4 раза у больных ХАГ, ИЛ-8 (в 19 раз у больных ХГ, в 16 раз у больных ХАГ) и интерферон- γ (в 4,8 раза у больных ХГ, в 5,3 раза у больных ХАГ) и противовоспалительного (ИЛ-4 в 12 раз у ХГ, в 13 раз у ХАГ) цитокинов, происходит активация иммунитета по Th1 и Th2 – типам.
5. При ХАГ имеет место увеличение содержания первичных - ДК (в 2 раза) и конечных (MDA) продуктов перекисного окисления липидов (в 2 раза) с одновременным снижением активности ферментативного звена антиоксидантной системы (SOD – в 1,5 раза, САТ - в 1,5 раза, GST - на 63%, GPO - на 61%), при этом значения КОС у больных ХАГ повышаются в 15 раз. В группах ХГ и ХАГ с *H. pylori* установлено увеличение содержания первичных - ДК (на 74% и в 2 раза, соответственно) и конечных (MDA) продуктов перекисного окисления липидов (в 2 раза в обеих группах) на фоне сниженной активности ферментативного звена антиоксидантной системы (SOD - в 2,5 раза и в 2,7 раза, САТ - в 2 и в 3 раза, GST - на 21% и на 70%, GPO - в 2 раза и на 68%, соответственно. КОС у больных ХГ с

H. pylori повышается в 8 раз, у больных ХАГ с *H. pylori* - в 22 раза по сравнению с контрольной группой.

6. Во всех группах отмечается ослабление большинства корреляционных зависимостей систем иммунитета, цитокиновой регуляции и ПОЛ-АОЗ, характерных для группы сравнения с преобладанием нестабильных связей положительной направленности.
7. Наиболее информативными показателями систем иммунитета и липопероксидации, позволяющими осуществлять дифференцированный подход к диагностике и коррекции выявленных нарушений у мужчин с ХГ в сочетании с *H. pylori* являются –NK–клетки; в группе с ХАГ с *H. pylori* - CD19⁺ - лимфоциты, IgG, NK – клетки, ИЛ-2, интерферон-γ и MDA. % правильной классификации - 90,8.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации

1. Смирнова, О. В. Особенности неспецифического звена иммунитета у больных хроническим атрофическим гастритом / О. В. Смирнова, В. В. Цуканов, Э. В. Каспаров, А. А. Синяков, А. В. Васютин // В мире научных открытий. – 2016. – №1 (73) – С. 53-74.
2. Синяков, А. А. Показатели клеточного иммунитета в крови у больных атрофическим гастритом и раком желудка / А. А. Синяков, О. В. Смирнова, В. В. Цуканов, Э. В. Каспаров, А. В. Васютин // Доктор. ру. – 2016. – №1 (118). – С. 24-26.
3. Синяков, А. А. Показатели иммунного статуса в крови у больных атрофическим гастритом / А. А. Синяков, О. В. Смирнова, В. В. Цуканов, Э. В. Каспаров, А. В. Васютин // Дневник Казанской медицинской школы. – 2016. – №1 (11). – С. 29-31.
4. Смирнова О. В. Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных хроническим гастритом, хроническим атрофическим гастритом и раком желудка / О. В. Смирнова, В. В. Цуканов, А. А. Синяков // Медицинская иммунология. – 2017. – №5 (19). – С. 609-614.
5. Smirnova, O. The feature of nonspecific immunity in *H. pylori*-associated diseases of the stomach / O. Smirnova, V. Tsukanov, E. Kasparov, A. Sinyakov // Journal Gastroenterology and Hepatology. – 2016. – Vol.31, Suppl. 3. – P. 60.
6. Smirnova, O. Peculiarities of the main classes of immunoglobulins performance in *H. pylori* associated diseases of the stomach / O. Smirnova, V. Tsukanov, E. Kasparov, A. Sinyakov // Journal Gastroenterology and Hepatology. – 2016. – Vol. 31, Suppl. 3. – P. 60.
7. Smirnova, O. Features of chemiluminescence activity of neutrophils in *H. pylori* – associated diseases of stomach / O. Smirnova, V. Tsukanov, E. Kasparov, A. Sinyakov // Helicobacter. – 2016. – Vol. 21, Suppl. 1. – P. 163.
8. Smirnova, O. *H. pylori*-associated diseases of stomach / O. Smirnova, V. Tsukanov, E. Kasparov, A. Sinyakov // Helicobacter. – 2016. – Vol. 21, Suppl. 1. – P. 162.
9. Tsukanov, V. V. Indicators of cell immunity in the blood in patients with atrophic gastritis and gastric cancer / V. V. Tsukanov, O. V. Smirnova, E. V. Kasparov, A. V. Vasyutin, A. A. Sinyakov // Helicobacter. – 2016. – Vol. 21, Suppl.1. – P. 131-132.

10. Smirnova, O. V. Patterns of changes in pro-oxidant and antioxidant systems in blood plasma for chronic gastritis, chronic atrophic gastritis and gastric cancer / O. V. Smirnova, V. V. Tsukanov, A. A. Sinyakov // *Helicobacter*. – 2017. – Vol.22, Suppl.1. – P. 74.
11. Smirnova, O. Parameters of chemiluminescent activity of neutrophilic granulocytes in patients with chronic atrophic gastritis and gastric cancer / O. Smirnova, V. Tsukanov, A. Sinyakov // *Helicobacter*. – 2017. – Vol.22, Suppl. 1. – P. 75.
12. Tsukanov, V. V. The content of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in patients with chronic atrophic gastritis and gastric cancer with *Helicobacter pylori* / V. V. Tsukanov, O. V Smirnova, A. A. Sinyakov // *Helicobacter*. – 2017. – Vol.22, Suppl. 1. – P. 106.

Работы, опубликованные в прочих изданиях

13. Сиянков, А. А. Оценка хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных атрофическим гастритом / А. А. Сиянков, О. В. Смирнова, А. В. Васютин, Ю. С. Шангина // *Материалы XIII научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири»* (г.Красноярск). – 2015. – С. 48.
14. Сиянков, А. А. Оценка клеточного иммунитета у больных атрофическим гастритом / А. А. Сиянков, О. В. Смирнова, А. В. Васютин, К. С. Волчкова // *Материалы XIII научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири»* (г.Красноярск). – 2015. – С. 49.
15. Сиянков А. А. Специфические особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных атрофическим гастритом / А. А. Сиянков, О. В. Смирнова, В. В. Цуканов, А. В. Васютин // *Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Дни иммунологии в Сибири»* (г.Новосибирск). –2015. – С.18-20.
16. Сиянков А. А. Изменения клеточного звена иммунитета в крови больных атрофическим гастритом и раком / А. А. Сиянков, О. В. Смирнова, В. В. Цуканов // *Материалы XIV научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири»* (г.Красноярск). – 2016. – С. 42-43.
17. Сиянков, А. А. Провоспалительные и противовоспалительные цитокины в прогрессировании атрофического гастрита/А.А. Сиянков, О.В. Смирнова, В.В. Цуканов // *Материалы XIV научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири»* (г.Красноярск). – 2016. – С. 40-42.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода
 НГ – нейтрофильные гранулоциты
 ПОЛ – перекисное окисление липидов
 СОЖ – слизистая оболочка желудка
 ХАГ – хронический атрофический гастрит
 ХГ – хронический гастрит
 ХЛ – хемилюминесценция
 САТ – каталаза
 СР – церулоплазмин
 ГРО – глутатионпероксидаза