

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«Хакасский государственный университет им. Н.Ф.Катанова»**

На правах рукописи

Саранчина Юлия Владимировна

**ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ  
НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО ОТВЕТА  
В ПАТОГЕНЕЗЕ HELICOBACTER PYLORI-АССОЦИИРОВАННОГО  
ХРОНИЧЕСКОГО ГАСТРИТА**

14.03.03 – патологическая физиология

Диссертация

на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, доцент  
Е.С.Агеева

Абакан  
2015

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	13
1.1. Общая характеристика <i>H. pylori</i> - инфекции.....	13
1.1.1. История открытия <i>H. pylori</i> .....	13
1.1.2. Систематическое положение <i>H. pylori</i> .....	14
1.1.3. Особенности строения <i>H. pylori</i> .....	15
1.1.4. Факторы патогенности <i>H. pylori</i> .....	17
1.1.5. Эпидемиология <i>H. pylori</i> -инфекции.....	22
1.2. Особенности иммунного ответа при <i>H. pylori</i> - инфекции.....	23
1.2.1. Роль нейтрофилов в реализации врожденного иммунного ответа на <i>H.pylori</i> - инфекцию .....	25
1.2.2. Роль лимфоцитов в реализации адаптивного иммунного ответа на <i>H.pylori</i> –инфекцию .....	29
1.2.3. Роль системы цитокинов в межклеточной кооперации при <i>H. pylori</i> -инфекции.....	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	37
2.1. Объект исследования .....	37
2.2. Материал исследования.....	39
2.3. Методы исследования.....	39
2.3.1. Методы обнаружения <i>H.pylori</i> .....	40
2.3.1.1. Цитологический метод оценки обсемененности слизистой оболочки желудка <i>H.pylori</i> .....	40
2.3.1.2. Определение специфических IgG к антигену <i>cagA H.pylori</i> в сыворотке крови.....	41

2.3.1.3. Определение видов и субтипов <i>H. pylori</i> в биоптатах слизистой оболочки желудка .....	42
2.3.1.4. Морфометрия структурных элементов слизистой оболочки желудка	43
2.3.2. Методы оценки иммунного статуса.....	45
2.3.2.1.Определение общего количества лейкоцитов в периферической крови.....	45
2.3.2.2. Оценка интегральных лейкоцитарных индексов.....	45
2.3.2.3. Оценка фагоцитарной активности нейтрофилов.....	47
2.3.2.4. Оценка спонтанной и индуцированной цитокин-продуцирующей способности мононуклеарных лейкоцитов .....	48
2.3.2.5. Определение цитокиновых индексов .....	49
2.3.2.6. Анализ аллельных вариантов генов интерлейкинов .....	51
2.3.3. Статистический анализ.....	53
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>	<b>55</b>
3.1. Клинико-морфологическая характеристика больных с <i>H. pylori</i> -ассоциированным хроническим гастритом.....	55
3.2. Характеристика распределения <i>H. pylori</i> у больных с хроническим гастритом.....	57
3.3. Оценка количественного содержания лейкоцитов в периферической крови у больных с <i>H. pylori</i> -ассоциированным хроническим гастритом .....	60
3.3.1. Оценка интегральных лейкоцитарных индексов.....	63
3.4. Особенности фагоцитарной активности нейтрофилов при <i>H. pylori</i> -ассоциированном хроническом гастрите .....	66
3.5. Особенности продукции цитокинов при <i>H. pylori</i> -ассоциированном хроническом гастрите.....	68
3.5.1. Особенности соотношения про- и противовоспалительных цитокинов при <i>H. pylori</i> -ассоциированном хроническом гастрите .....	75
3.6. Анализ полиморфизма генов интерлейкинов при <i>H.pylori</i> -ассоциированном хроническом гастрите .....	77

3.6.1. Оценка полиморфизма гена IL1 $\beta$ (+3953) C/T при <i>H. pylori</i> -ассоциированном хроническом гастрите .....	77
3.6.2. Оценка полиморфизма гена IL2 (-330) T/G при <i>H. pylori</i> -ассоциированном хроническом гастрите .....	80
3.6.3. Оценка полиморфизма гена IL8 (-251) A/T при <i>H.pylori</i> -ассоциированном хроническом гастрите .....	82
3.7. Системный анализ показателей, характеризующих состояние иммунного ответа у пациентов с <i>H. pylori</i> -ассоциированным хроническим гастритом .....	85
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	92
4.1. Характеристика количественного содержания лейкоцитов при <i>H. pylori</i> -ассоциированном хроническом гастрите .....	100
4.2. Характеристика фагоцитарной активности нейтрофилов при <i>H.pylori</i> -ассоциированном хроническом гастрите .....	107
4.3. Характеристика цитокин-продуцирующей способности лейкоцитов при <i>H. pylori</i> -ассоциированном хроническом гастрите .....	120
ВЫВОДЫ .....	128
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	130

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АФК-активные формы кислорода

АХГ-атрофический хронический гастрит

ДНК-дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФА-иммуноферментный анализ

ПХГ-поверхностный хронический гастрит

ПЦР-полимеразная цепная реакция

СОЖ-слизистая оболочка желудка

СП – спонтанная продукция

ФГА – фитогемагглютинин-индуцированная продукция

ХГ- хронический гастрит

ЭДТА – этилендиаминтетраацетат

CD (Cluster Differentiation) – кластер дифференцировки

*H.pylori* - *Helicobacter pylori*

IL-интерлейкин

Ig - иммуноглобулин

LPS (Lipopolysaccharide) – липополисахарид

MHC (major histocompatibility complex) - главный комплекс гистосовместимости

TCR (T cell receptor) – Т-клеточный рецептор

Th (T helper) – Т-хелперный лимфоцит

TLR (Toll-like receptor) – Т-клеточный рецептор

TNF (tumor necrosis factor) – фактор некроза опухоли

INF – интерферон

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Инфекция *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) является одной из распространенных причин хронического гастрита, язвенной болезни и рака желудка [21, 31, 51, 81, 90, 93, 163, 164, 208, 268, 275, 280]. Хронический гастрит является наиболее частой патологией среди всех заболеваний органов пищеварения. Инфицирование *H. pylori* происходит в детском и подростковом возрасте, при этом могут наблюдаться различные диспептические расстройства и даже бессимптомное носительство. Активация иммунной системы в ответ на возбудителя не заканчивается полной его элиминацией из организма, что способствует развитию хронического воспаления. Кроме того, бактерия, индуцируя иммунновоспалительную реакцию, способствует гибели собственных клеток макроорганизма, что обуславливает развитие глубоких дистрофических и атрофических изменений слизистой оболочки желудка с явлениями метаплазии и дисплазии. Дальнейшие гиперпластические процессы приводят к развитию рака желудка [13, 163, 181, 222, 269, 280, 282]. В связи с этим является актуальными ранее выявление, своевременная диагностика и лечение пациентов с предраковыми состояниями и изменениями слизистой оболочки желудка.

На сегодняшний день проведено достаточное количество исследований, посвященных изучению иммунного ответа против *H.pylori* - инфекции, которые отражены в отечественной и зарубежной литературе [6, 41, 69, 110, 114, 143, 161, 243, 256 и др.]. Но, несмотря на большое количество публикаций, все еще остается до конца не решенный вопрос о механизмах, препятствующих процессам саногенеза на уровне местной иммунной системы и эпителия слизистой оболочки желудка [42]. Согласно, последним данным, основная роль в патогенезе *H.pylori* - ассоциированного хронического гастрита - отводится нарушению антигенспецифического реагирования лимфоцитов, что обусловлено дисрегуляцией цитокиновой продукции [4, 5, 7, 8, 9, 41, 110, 143, 154]. Однако, в

патогенезе *H.pylori*-инфекции данных о роли нейтрофилов, которые первыми реагируют на проникновение чужеродного антигена, немного. Известно, что воспалительная реакция в слизистой оболочке желудка при *H.pylori*-ассоциированном гастрите характеризуется инфильтрацией нейтрофилами, хемотаксис которых индуцируется самой бактерией за счет продукции хемотаксических веществ и активацией продукции ИЛ-8 эпителиальными клетками слизистой [94, 285]. Но, несмотря на приток нейтрофилов в очаг воспаления полной эрадикации возбудителя не происходит, а активированные нейтрофилы вызывают деструкцию собственных клеток слизистой [37, 69, 105, 117].

Таким образом, *H.pylori* приводит к изменению функциональной активности лейкоцитов, что снижает их защитные свойства и способствует длительной персистенции возбудителя. Сведения о функциональном состоянии лейкоцитов крови при атрофическом гастрите немногочисленны и требуют проведения дополнительных исследований.

### **Цели и задачи исследования**

Целью данной работы является выявление закономерностей изменения количества и функционального состояния лейкоцитов крови у больных с *H. pylori*-ассоциированным поверхностным и атрофическим гастритом.

Для реализации цели поставлены следующие задачи:

1. Исследовать изменения количественного содержания лейкоцитов крови у больных с *H. pylori*-ассоциированным поверхностным и атрофическим гастритом.
2. Оценить функциональное состояние гранулоцитов крови по показателям интегральных лейкоцитарных индексов и фагоцитоза у больных с *H. pylori*-ассоциированным поверхностным и атрофическим гастритом.
3. Дать характеристику спонтанной и ФГА-индуцированной продукции ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10 мононуклеарами крови и установить соотношение оппозитных пулов цитокинов у больных с *H. pylori*-ассоциированным поверхностным и атрофическим гастритом.

4. Установить влияние полиморфизма генов IL1 $\beta$  (+3953) C/T, IL2 (-330) T/G, IL8 (-251) T/A на цитокиновую продукцию лейкоцитов крови у пациентов с *H. pylori*-ассоциированным поверхностным и атрофическим гастритом.

### Научная новизна

В работе впервые были представлены данные о функциональной активности и количестве нейтрофилов и мононуклеаров периферической крови при *H. pylori*-ассоциированном атрофическом и поверхностном хроническом гастрите.

Впервые установлены особенности фагоцитарной активности нейтрофилов при атрофическом и поверхностном хроническом гастрите. Впервые на основании количественного соотношения клеток периферической крови были рассчитаны интегральные лейкоцитарные индексы интоксикации и неспецифической резистентности у пациентов с хронической инфекцией *H. pylori* (поверхностный хронический и атрофический гастрит).

Приоритетными являются сведения о спонтанной и ФГА-стимулированной продукции интерлейкинов IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10 мононуклеарами периферической крови больных с хроническим атрофическим гастритом и без атрофии.

Впервые была показана роль цитокинов крови (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8) в иммунопатогенезе атрофического гастрита у европеоидного населения Республики Хакасия в зависимости от генетических особенностей *H. pylori*.

Новыми являются данные об ассоциации между генотипами IL1 $\beta$  (+3953) C/T, IL2 (-330) T/G, IL8 (-251) T/A и концентрацией интерлейкинов IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8 при поверхностном и атрофическом хроническом гастрите у европеоидов Республики Хакасия.

Впервые установлена связь между предрасположенностью к *H. pylori* – индуцированным заболеваниям и носительством полиморфных вариантов генов интерлейкинов (поверхностный гастрит: IL1 $\beta$  (+3953) C/C и IL2 (-330) G/T; атрофический гастрит: IL1 $\beta$  (+3953) C/T; IL2 (-330) G/T и IL8 (-251) T/T).



## Теоретическая и практическая значимость работы

В результате исследования получены новые данные, касающиеся особенностей цитокиновой регуляции механизмов развития атрофического гастрита. Показана роль нейтрофилов в патогенезе хронической *H. pylori* инфекции. Результаты проведенного исследования позволили выявить взаимосвязь между генетическими особенностями патогена (*vacA* и *cagA* генов) и полиморфными вариантами генов цитокинов IL1 $\beta$  (+3953) C/T; IL2 (-330) G/T и IL8 (-251) T/T), определить их роль в патогенезе *H. pylori*-ассоциированных заболеваний (поверхностного хронического гастрита и атрофического гастрита). Полученные сведения могут быть использованы в качестве основы для оценки риска развития атрофического гастрита.

### Положения, выносимые на защиту:

1. Изменения в лейкоцитарной формуле у больных с *H. pylori*-ассоциированным атрофическим гастритом отличаются от пациентов с поверхностным гастритом и характеризуются повышением в периферической крови количества клеток неспецифического звена иммунного ответа: моноцитов, эозинофилов, базофилов, палочкоядерных нейтрофилов и снижением сегментоядерных нейтрофилов.
2. При *H. pylori*-ассоциированном поверхностном гастрите нарушения функциональной активности нейтрофилов не установлены, а при атрофическом гастрите фагоцитарная недостаточность нейтрофилов служит основой для развития хронического воспаления.
3. Ключевым механизмом прогрессирования воспаления при *H. pylori* - ассоциированном поверхностном и атрофическом гастрите является преобладание пула провоспалительных цитокинов над противовоспалительными на фоне снижения IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-10 и повышения IL-8. Полиморфизм генов IL1 $\beta$  (+3953) C/T, IL2 (-330) T/G, IL8 (-251) определяет особенности патогенеза *H. pylori*-ассоциированного поверхностного и атрофического гастрита.

## Апробация и реализация работы

Результаты проведенных исследований докладывались и обсуждались на межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы медицины» (Абакан, 2010, 2011, 2012, 2013), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Дни иммунологии в Сибири» (Абакан, 2011), ежегодной Всероссийской научно-практической конференции «Наука, образование, медицина» (Самара, 2011), Научно-практической конференции «Актуальные вопросы бактериологии» (Томск, 2011), Всероссийской молодежной научно-практической конференции «Адаптация человека на Севере: медико-биологические аспекты» (Архангельск, 2012), Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины» (Харьков, 2013), шестой Всероссийской научно-практической конференции «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов» (Новосибирск, 2013), VIII съезде онкологов «Онкология XXI века – от научных исследований в клиническую практику» (Санкт-Петербург, 2013), второй Забайкальской конференции «Актуальные проблемы гастроэнтерологии» (Чита, 2013), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Дни иммунологии в Сибири» (Кызыл, 2013), Девятнадцатой Российской Гастроэнтерологической недели (Москва, 2013), VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика-2014» (Москва, 2014), XXI Российского национального конгресса «Человек и лекарство» (Москва, 2014), Научно-практической конференции молодых ученых «От эпидемиологии к диагностике инфекционных заболеваний: подходы, традиции, инновации» (Санкт-Петербург, 2014), 14-ой Сибирской гастроэнтерологической конференции «Современные проблемы предраковых и онкологических заболеваний пищеварительного тракта» (Абакан, 2014), Седьмой Всероссийской научно-практической конференции «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов» (Новосибирск, 2015), 15-ой Сибирской гастроэнтерологической конференции

«Современные проблемы предраковых и онкологических заболеваний пищеварительного тракта» (Красноярск, 2015), XV Всероссийском Научном Форуме с международным участием им. академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2015).

Основные положения и выводы диссертационной работы используются в учебном процессе кафедры фундаментальной медицины и гигиены по дисциплинам «Патофизиология, клиническая патофизиология», «Микробиология, вирусология», «Иммунология» для студентов, обучающихся по специальности «Лечебное дело» Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВПО «ХГУ им. Н. Ф. Катанова».

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 11-04-98051 р\_сибирь\_a – «Выявление ключевых патогенетических механизмов развития опухолевой трансформации у больных атрофическим гастритом и разработка технологии их коррекции» (2011), в рамках государственного задания Минобрнауки РФ «Исследование особенностей иммунопатогенеза и разработка технологий персонализированной диагностики распространенных и социально значимых заболеваний у жителей Республики Хакасия» (2014-2015 гг.).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 57 работ, из них 9 статей в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, определенных ВАК РФ, 48 статей и тезисов в материалах конференций, конгрессов и съездов, оформлен патент на изобретение №2561054 «Способ оценки риска развития атрофического гастрита у европеоидов Хакасии».

### **Личный вклад автора**

Автором были выполнены следующие этапы работ: анализ данных отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, определение специфических IgG к *H.pylori* в сыворотке крови, определение общего количества лейкоцитов в крови, подсчет лейкоцитарной формулы и интегральных лейкоцитарных индексов, определение фагоцитарной активности нейтрофилов, выделение и культивирование мононуклеаров крови, оценка спонтанной и ФГА-

индуцированной продукции IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10 культурой мононуклеаров, определение цитокиновых индексов, анализ полиморфизма генов интерлейкинов, статистический анализ результатов, написание диссертации.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из списка сокращений, введения, четырех глав, выводов и списка использованной литературы. Объем работы составляет 159 страниц, включая 30 таблиц и 16 рисунков. Список литературы включает 291 наименование, в том числе 128 на иностранных языках.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Общая характеристика *H. pylori* - инфекции

Открытие бактерии *H. pylori* изменило существовавшие представления об этиологии хронического гастрита и язвенной болезни желудка. В связи с чем началось разностороннее изучение процессов, происходящих в организме на молекулярном, клеточном и организменном уровне с привлечением иммунологических, молекулярно-биологических и гастроэнтрологических методов исследований.

#### 1.1.1. История открытия *H. pylori*

Первые сведения о наличии в желудке спиралевидных бактерий появились в 1893 г., когда G. Vizzozero обнаружил их в париетальных клетках желудка собак [177]. Дальнейшие исследования W. Krienitz (1906) [225], E. S. Rosenow, A. H. Sanford (1915) [261], J. L. Doenges (1938) [186] и A. S. Freedberg (1940) [195] показали наличие микроорганизмов на поверхности слизистой оболочки желудка человека. При этом, не было указано на связь между заболеваниями желудка и бактериями [248]. В связи с чем, дальнейшие исследования в этом направлении были на время приостановлены.

Второй этап изучения спиралевидных микроорганизмов, обнаруженных в желудке, начался лишь с 60-х годов XX века, что было связано с развитием метода фиброволоконной эндоскопии. Так, в 1975 году Н. W. Steer удалось выделить спиралевидные бактерии из измененных участков слизистой оболочки антрального отдела желудка больного гастритом. Также он указал на признаки воспаления слизистой оболочки желудка в участках их колонизации [271]. Но культивировать их не удалось. Впервые в 1982 г. это осуществили В. J. Marshall и J. R. Warren, взяв материал со слизистой оболочки желудка больного гастритом. Также они предположили, что этот микроорганизм может служить причиной развития активного гастрита у людей. В 1983 г. В. J. Marshall и J. R. Warren

опубликовали результаты своих исследований в журнале *Lancet* [236]. Выделенные микроорганизмы были названы *Campylobacter Like Organism (CLO)* и отвечали всем постулатам Коха, для признания их причиной воспалительной реакции слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки. В 1985 году новый микроорганизм был включен в международную таксономию бактерий под названием *Campylobacter pyloridis*, а в 1987 году был переименован в *Campylobacter pylori* [276]. В 1989 году С. S. Goodwin с соавторами продемонстрировали, что эта бактерия генетически, а также по особенностям роста *in vivo*, по общим принципам культивирования и по месту локализации отличается от этого рода и назвали ее *Helicobacter pylori* [201].

Таким образом, открытие бактерии *H. pylori* обосновало инфекционную теорию развития хронических воспалительных процессов слизистой оболочки желудка и способствовало активному изучению механизмов развития заболеваний желудочно-кишечного тракта в различных областях медицины - патоморфологии, гастроэнтерологии, микробиологии, иммунологии, генетики, эпидемиологии и фармакологии [16, 27, 40, 54, 74, 93, 168, 194, 226, 239, 264, 280].

### 1.1.2. Систематическое положение *H. pylori*

*H. pylori* относится к классу:  $\epsilon$ -proteobacteria, порядку: *Campylobacterales*, семейству: *Helicobacteraceae*, роду: *Helicobacter*, виду: *Helicobacter pylori* [175, 197]. Отмечено, что *H. pylori* характеризуется высоким уровнем полиморфизма штаммов. Типовыми штаммами являются: ATCC 43504, DSM 4867, JCM 7653, LMG 7539, NCTC 11637 [175].

Кроме *H. pylori* к роду *Helicobacter* также относятся 29 видов бактерий [224]. Более 10 видов бактерий рода являются патогенными для человека (*H. heilmannii*, *H. cinaedi*, *H. fennelliae*, *H. bilis*, *H. pullorum*, *H. hepaticus* и др.) [284].

### 1.1.3. Особенности строения *H. pylori*

*H. pylori* представляет собой неспорообразующую грамотрицательную бактерию, имеющую вид спиралевидно изогнутой палочки с закругленными полюсами, несколько реже встречаются U-образная, V-образная (рисунок 1). Последние две формы являются промежуточным звеном между спиралевидными и кокковыми формами бактерий [149].



Бактерия имеет размер от 2,5 до 3,5 мкм в длину и 0,5–1,0 мкм в ширину. *H. pylori* обладает подвижностью за счет наличия на одном из полюсов от 1 до 6 жгутиков. Под действием неблагоприятных факторов внешней среды (изменение температуры или pH, длительное культивирование) *H. pylori* обладает способностью образовывать кокковые формы. Это может быть связано как с дегенеративными изменениями, так и с переходом в неактивную фазу, что благоприятствует ее выживанию и может являться важным фактором в эпидемиологии и распространении бактерий. Кокковые формы теряют ферментативную активность и репродуктивную способность, не поддаются культивированию на искусственных питательных средах, устойчивы к внешним воздействиям, в том числе к действию антибактериальных препаратов. При этом у них редуцируется обмен веществ, что создает благоприятные условия для сохранения бактерий в кишечнике или во внешней среде, откуда они могут передаваться человеку фекально-оральным путем. Попав в благоприятные условия, такие формы *H. pylori* могут вновь трансформироваться в вегетативные формы, способные колонизировать слизистую оболочку желудка. Кокковидные клетки отличаются деталями строения клеточной стенки, что приводит к нарушению

процесса узнавания бактерии иммунной системой хозяина (бактериальная мимикрия) [154].

Бактериальная клетка *H. pylori* окружена хлопьевидным слоем гликокаликса. Гликокаликс представляет собой гликопротеидный полианионный гель, поддерживающийся матрицей. На 99 % он состоит из воды, а также липополисахаридов и белков, необходимых для адгезии *H. pylori* на поверхности эпителиоцитов, вызывающих развитие воспаления слизистой желудка [160]. Гликокаликс выполняет функцию анионного полимерного барьера и обладает способностью к образованию уреазы. Он обеспечивает невосприимчивость бактерии к антибиотикотерапии и защищает микроорганизм от иммунного ответа хозяина. Генетическими маркерами, ответственными за биосинтез липополисахаридов оболочки *H. pylori*, являются *alga*, *rfaJ*, *lpxB*. Разрушение гликокаликса приводит к повреждению бактериальной клетки, а в дальнейшем и к ее гибели [154].

Геном *H. pylori* представлен кольцевой двуцепочечной молекулой ДНК. В двух штаммах *H. pylori* «J99» и «26695» определены полные последовательности нуклеотидов. Размеры штамма «26695» - 1667867 пар оснований, 1630 генов, из которых 1576 кодируют белки, из них более 60 отнесены к категории патогенных генов. Штамм «J99» имеет 1643831 пар оснований, 1535 генов, из которых 1489 кодируют белки. Эти штаммы *H. pylori* демонстрирует различия до 6 % нуклеотидов, что свидетельствует о высоком уровне внутривидового полиморфизма. В тоже время, по сравнению с другими кишечными бактериями *H. pylori* является консервативной [148, 165].

Бактерия является микроаэрофильной, т.е. для ее культивирования необходим кислород, но, в пониженных концентрациях по сравнению с содержанием кислорода в обычном воздухе или в нормальных тканях организма хозяина. Поэтому для его инкубации оптимальными условиями являются: температура +37 °С, содержание кислорода не более 5–6 %, содержание углекислого газа не менее 8–10 %, содержание азота до 80–85 % и влажность воздуха – 95 %. Наиболее благоприятными условиями существования бактерии являются температура 37–42



°C и pH среды 6-8. При более низких значениях pH (4-6) бактерии сохраняют свою жизнеспособность, но прекращают рост и размножение [144].

*H. pylori* растет на сложных питательных средах с добавлением лошадиной или эмбриональной телячьей сыворотки, растворимого крахмала, активированного угля, низкомолекулярного гидролизата белков и антибиотиков для подавления роста посторонней флоры. На плотных питательных средах патоген формирует мелкие, круглые, гладкие, прозрачные, росинчатые колонии диаметром 1 - 3 мм [100].

#### 1.1.4. Факторы патогенности *H. pylori*

*H. pylori* имеет достаточно широкий набор факторов патогенности, большинство из которых хорошо адаптированы к условиям паразитизма этого микроорганизма в желудке, обеспечивая ему выживание в кислой среде желудочного содержимого и колонизацию слизистой оболочки (рисунок 2) [56, 79, 129, 154, 161].

Важным фактором колонизации *H. pylori* является подвижность, связанная с наличием мощных жгутиков, которые обеспечивают быстрое движение микроорганизма в слое густой слизи вдоль градиента pH и служат одним из факторов его вирулентности, а также способствуют агрегации *H. pylori* на поверхности эпителия. Основу жгутиков составляют два белка FlaA и FlaB, кодируемые генами *flaA* и *flaB*. Подвижность бактерии относят к эссенциальным (врожденным) факторам патогенности [44, 79].

Кроме того, наличие слоя гликокаликса, покрывающего бактериальную клетку, защищает ее от разрушающего действия соляной кислоты, что также способствует колонизации на слизистой оболочке желудка [43, 79].

Вырабатываемая *H. pylori* уреаза представляет собой никель-содержащий гексадимер и является маркером инфекции. В генном кластере уреазы *H. pylori* обнаружено семь генов: *ureA*, *ureB* (кодируют структурные субъединицы уреазы), *ureE*, *ureF*, *ureG*, *ureH* (кодируют дополнительные белки, необходимые для сборки

и включения ионов  $\text{Ni}^{2+}$ ), ureI (кодирует канал уреазы для  $\text{H}^+$  и является транспортной системой для перемещения мочевины в цитоплазму бактерии) [145].

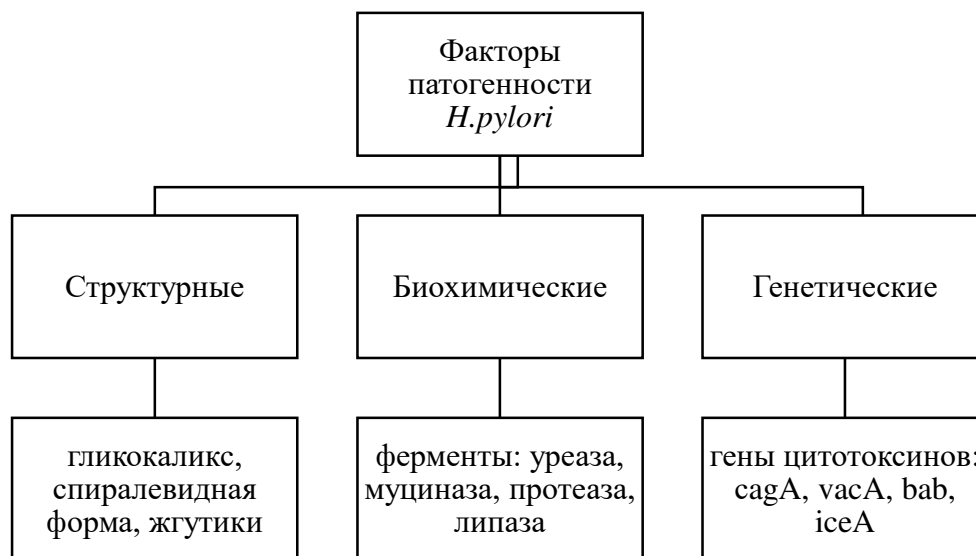


Рисунок 2 - Факторы патогенности *H. pylori*

(по данным Исакова В.А. [56]; Кудрявцевой Л.В. [79]; Сарсенбаевой А.С. [129]; Шкитина В.А. [154]; Ющук Н.И. [161])

В отличие от других бактерий, которые также образуют уреазу (*Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*), у *H. pylori* уреазы располагается не только в цитоплазме, но и на поверхности клеток [102]. Это происходит в результате аутолиза части микроорганизмов и адсорбции фермента на поверхности выживших бактерий. Наличие внеклеточной уреазы имеет большое значение для выживания *H. pylori*. Будучи сильным антигеном, фермент связывает антитела, которые могли бы повредить *H. pylori*, и комплекс уреазы-антитела удаляется с поверхности клеток. После этого свободная уреазы вновь появляется на поверхности клеток [43]. Помимо этого, уреазы *H. pylori* действует как токсин. Так, ионы аммония, образующиеся при гидролизе мочевины, повреждают эпителий, что усиливает воспалительные реакции за счет активации моноцитов и нейтрофилов, стимуляции секреции цитокинов, образования радикалов кислорода и окиси азота. Кроме того, большая субъединица уреазы (UreB) действует как аттрактант для лейкоцитов [102]. Продукция большого количества уреазы способствует расщеплению мочевины с образованием углекислого газа и аммиака, который нейтрализует

соляную кислоту желудочного сока, создавая вокруг бактерии локальную среду с  $pH=7$ , наиболее благоприятную для его существования [161].

Помимо уреазы, *H. pylori* способна секретировать во внешнюю среду литические ферменты — липазу, муциназу, протеазу, каталазу. Фосфолипазы бактерий гидролизуют фосфолипиды мембран желудочных клеток и желчи с образованием высокотоксичных лизолецитинов, а также разрушают гидрофобный слой слизи, содержащий фосфолипиды и предохраняющий эпителий от прямого воздействия соляной кислоты и пепсина [161].

Протеаза разрушает защитные белковые комплексы, а муциназа - белок муцин, содержащийся в желудочной слизи. Вследствие этого вокруг бактерии формируется зона локального снижения вязкости желудочной слизи, уменьшаются ее гидрофобные свойства и толщина, нарушается слоистая структура геля слизи. В дальнейшем, *H. pylori* подавляет также и процесс синтеза муцина в желудке [161]. Установлено, что выделение каталазы позволяет *H. pylori* подавлять иммунный ответ организма, этот фермент адаптации катализирует реакцию превращения бактерицидных соединений кислорода, высвобождаемых активированными в результате инфекции нейтрофилами, в такие безвредные вещества, как кислород и вода, что позволяет *H. pylori* избежать деструктивного воздействия со стороны нейтрофилов [56].

Липополисахариды и белки наружной оболочки бактерии обладают свойством адгезии к клеткам слизистой оболочки желудка, что индуцирует иммунный ответ организма хозяина и развитие воспаления [154].

Выживание *H. pylori* в кислой среде и колонизация слизистой оболочки желудка обеспечивается не только структурными и биохимическим факторами патогенности, но также цитотоксинами. Наиболее изученными и играющими ключевую роль в патогенезе *H. pylori*-инфекции являются следующие цитотоксические гены: *vacA* (vacuolating cytotoxin associated gene), *cagA* (cytotoxic-associated gene), *iceA* (induced by contact with epithelium) и *babA* (blood group associated binding gene) (таблица 1).

Таблица 1 - Продукты генов цитотоксичности *H. pylori*, обеспечивающие колонизацию слизистой оболочки желудка  
(по данным Шкитина В.А. [154]; Baldwin D. N. [172]; Ikenoue T. [209]; Nogueira C. [245]; Schweinitzer T. [266]; Suerbaum S. [272];)

Цитотоксины	Функция
VacA – цитотоксин А	Вызывает образование вакуолей в клетках желудочного эпителия и апоптоз эпителиоцитов, ингибирует секрецию кислоты в желудке, индуцирует диарею, увеличивает секрецию пепсиногена, повреждает расщепляющую способность эндосом и лизосом, индуцирует увеличение внеклеточной секреции кислых гидролаз, ингибирует клеточную пролиферацию, нарушает презентацию антигена, повреждает митохондрии, дезорганизует цитоскелетную архитектуру клеток желудочного эпителия.
CagA – «островок патогенности»	Индуцирует выработку провоспалительных цитокинов, воспаление слизистой, клеточную пролиферацию и клеточную гибель.
IceA1, IceA2	Оказывают влияние на активность бактериальной метилтрансферазы, медиаторы адгезии.
BabA, BabB	Являются медиаторами адгезии к эпителиальным клеткам желудка

Многочисленными исследованиями было показано, что генотип *H. pylori* оказывает влияние на исход заболевания [5; 107, 132, 151, 152, 156].

Наиболее часто язвенная болезнь или рак желудка развивается при колонизации штаммами *H. pylori*, имеющими s1/ml вариант *vacA* гена и/или *cagA* гены (таблица 2).

Таблица 2 - Ассоциация генотипов факторов патогенности *H. pylori* с развитием заболеваний  
(по данным Макаренко Е.В. [96]; Hameed M.A. [203]; Peek R.M.J. [251]; Peek R.M.J. [252]; Piotrowski J. [255]; Zambon C.-F. [291])

Генотипы <i>H. pylori</i>	Ассоциация с заболеваниями
<i>vacAs1/ml</i>	Риск развития язвенной болезни или рака желудка
<i>cagA</i>	Риск развития дуоденальной или желудочной язвы, аденокарциномы желудка, кишечная метаплазия
<i>iceA1</i>	Чаще встречается при язвенной болезни
<i>iceA2</i>	Чаще встречается при гастритах
<i>babA2</i>	Чаще встречается у пациентов с язвенной болезнью и раком желудка
<i>babA2/cagA+/vacAs1ml</i>	Ассоциируются с атрофическим гастритом, кишечной метаплазией, усилением пролиферации желудочного эпителия в антруме и предрасполагают к развитию рака желудка .
<i>flaAи flaB</i>	Чаще встречается при гастродуоденальных язвах
<i>dupA</i>	Риск развития дуоденальной язвы

Эти штаммы выявляются у 90 % пациентов с язвенной болезнью и у 48% - с клинически выраженным гастритом и по патогенным свойствам примерно в 4 раза превосходят другие штаммы *H. pylori* [5, 107, 132, 151, 152, 155, 156]. При метаплазии кишечника показана синергетичность действия генов *babA2*, *cagA* и *vacAs1*, приводящая к патологическим процессам [97, 291].

Штаммы *H. pylori*, выделенные от больных с язвой желудка или двенадцатиперстной кишки, как правило, проявляют большую биохимическую агрессивность, чем штаммы, выделенные от больных с гастритом. В то время, как штаммы, выделенные от больных с гастритом, обычно более агрессивны и вирулентны, чем штаммы, выделенные от бессимптомных носителей [18, 244]. В частности, штаммы, выделенные от больных с язвенной болезнью, чаще бывают *CagA*-положительными (то есть продуцирующими *CagA* эффекторные белки). Штаммы, выделенные от больных с гастритом, чаще продуцируют экзотоксин *VacA*, чем штаммы, выделенные от бессимптомных носителей [130, 232, 288].

Для систематизации знаний о генетических и фенотипических особенностях *H.pylori* объединяют многочисленные штаммы в группы: тип I - *cagA*<sup>+</sup> и *vacA*<sup>+</sup> и тип II – *cagA* и *vacA*. Также показано, что в группе больных с язвенной болезнью достоверно чаще встречаются штаммы *H. pylori* с комбинацией генотипов I-го типа (*cagA*<sup>+</sup> и *vacA*<sup>+</sup>), определяющей высокую вирулентность хеликобактера [107, 252]. Однако, описаны случаи, когда от одного и того же человека выделяются штаммы обоих типов, что может быть результатом суперинфекции или нестабильности генома *H. pylori*, сопровождающейся постоянной рекомбинацией между штаммами. Такая особенность микроорганизма помогает ему лучше приспособливаться к хозяину и способствует глобальному распространению различных мутантов, в частности, обладающих устойчивостью к некоторым химиотерапевтическим средствам [43].

### 1.1.5. Эпидемиология *H. pylori*-инфекции

*H. pylori* – важнейший этиопатогенетический фактор развития хронического гастрита, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, MALT-лимфомы, аденокарциномы желудка [27, 91, 93, 95]. Изучается связь *H. pylori* с формированием идиопатической железодефицитной анемии, тромбоцитопенической пурпуры [207, 270], заболеваниями органов сердечно-сосудистой и центральной нервной систем [223, 224], а также иммуноопосредованными и метаболическими заболеваниями [173, 212].

*H. pylori*-инфекцию принято считать одной из наиболее распространенных бактериальных инфекций человека, так как она встречается более чем у 50 % мирового населения. Степень инфицированности зависит от нескольких факторов: пола, возраста, генетической предрасположенности, этнической принадлежности, а также общего экономического развития страны, уровня жизни и образования, санитарно-гигиенических условий проживания [32, 253, 275].

В развивающихся странах уровень инфицированности превышает 80 % [193]. Большинство детей инфицируется к 10-летнему возрасту, а к середине жизни возбудитель обнаруживается практически у каждого человека. В индустриально развитых странах распространенность этой инфекции значительно ниже - от 20 до 50%. В США, странах Европы инфицировано около 1/3 населения, большую часть которой составляют лица старшей возрастной группы. В странах Восточной Европы *H. pylori* обнаруживается у 40-70 % населения, а в России - у 50-80 %. При этом чаще (в среднем на 5-20 %) болеют мужчины [32, 34, 54, 57, 125, 250, 277].

Источником *H. pylori*-инфекции является человек: больной или бактерионоситель. Обычно заражение *H. pylori* происходит в детском или подростковом возрасте. Основными путями передачи инфекции являются орально-оральный, фекально-оральный, трансплацентарный и ятрогенный [79, 137, 154]. Отмечается существование семейных резервуаров *H. pylori*-инфекции и передачи возбудителя внутри семей [118, 187]. У родственников *H. pylori*-позитивных пациентов более высокая заболеваемость *H. pylori*-ассоциированной патологией по

сравнению с общей популяцией, из-за многократного повторного инфицирования членов семей [118].

Отмечены этнические особенности распространения инфекции. Так, по данным эпидемиологических исследований, частота инфицированности *H. pylori* у тувинцев составила 71,4 %, у чукчей – 52,6 %, коряков – 46,9 % у ненцов – 48,6 %, у хакасов – 36,5 %, эстонцев – 65,0 % [124, 152, 279, 281]. Выявлены популяционно-зависимые генетические детерминанты, определяющие более высокий риск развития *H. pylori*-ассоциированной патологии у разных народов [5, 18, 87, 124, 152].

## 1.2. Особенности иммунного ответа при *H. pylori* - инфекции

Иммунный ответ против *H. pylori* носит длительный вялотекущий характер и не заканчивается полной элиминацией возбудителя [10, 16, 57]. При попадании в организм *H.pylori* встречается с неспецифическими врожденными факторами защиты, которые представлены слизистой оболочкой желудка, соляной кислотой желудочного сока и перистальтикой желудка. Они препятствуют адгезии и колонизации бактерий на эпителиоциты. Однако, вырабатываемые *H.pylori* факторы патогенности способствуют преодолению этих барьеров. В результате *H.pylori* способствует постепенному развитию каскада неспецифических и специфических иммунных реакций, направленных на удаление патогена.

Неспецифические механизмы защиты против *H.pylori* реализуются за счет клеточных и гуморальных факторов. В качестве неспецифических гуморальных факторов выступают комплемент, лизоцины, естественные антитела. В ответ на антигены *H. pylori* плазматическими клетками слизистой оболочки желудка продуцируются иммуноглобулины классов IgA и IgG [20, 56, 76, 131, 138]. IgA играет ключевую роль в создании местного иммунитета слизистых оболочек, препятствующих адгезии бактерий на эпителиальных клетках [12, 41, 191, 220, 286]. Активной формой IgA является секреторный IgA (sIgA), который образуется из димерных молекул IgA при транспорте через эпителиальный слой [162]. В образовании димерных молекул IgA принимает участие J-цепь. Персистенция *H.*

*pylori* приводит к нарушению полимеризации IgA, вследствие снижения экспрессии J-цепи, что приводит к уменьшению концентрации иммуноглобулина в желудочном соке [154, 176]. Недостаточность sIgA влечет за собой колонизацию слизистых оболочек бактериями и повышает нагрузку на клеточное звено иммунного ответа [41, 54, 147, 290].

Продукция специфических к антигенам *H. pylori* IgG также является малоэффективной. Во-первых, это обусловлено тем, что IgG не способны проходить сквозь слизистый барьер в просвет желудка, тем самым не происходит взаимодействия антител с бактерией и их нейтрализация [285]. Во-вторых, молекулярная мимикрия антигенов *H. pylori* под Lewis антигены человека, которые экспрессируются неизменной слизистой оболочкой желудка, приводит к выработке перекрестно реагирующих антител, способствующих развитию аутоиммунной реакции с альтерацией собственных клеток организма [56, 117, 130, 166, 228]. Следовательно, гуморальный иммунный ответ неэффективен - несмотря на активацию продукции специфических антител, полной нейтрализации патогена не происходит.

Первыми клетками, мигрирующими к очагу воспаления под действием индуцируемых *H.pylori* хемоаттрактантов являются нейтрофилы и макрофаги, уничтожая бактерий путем фагоцитоза. Активированные нейтрофилы и макрофаги продуцируют в большом количестве бактерицидные вещества, а также провоспалительные цитокины, способствующие привлечению лимфоцитов. Макрофаги и нейтрофилы выступают в качестве антигенпрезентирующих клеток для Т-лимфоцитов. В результате процессинга бактериального антигена происходит его презентация для распознавания в составе главного комплекса гистосовместимости II класса. Далее развивается специфический иммунный ответ, который реализуется также в двух направлениях: клеточном и гуморальном.

Таким образом, инфицирование слизистой оболочки желудка *H.pylori* приводит к развитию острого воспаления, которое сопровождается комплексом иммунологических реакций. Однако, *H.pylori*, обладая набором факторов патогенности, способен изменять направление иммунного ответа, который в



результате приводит к уходу патогена от иммунологического надзора и формированию толерантности.

### **1.2.1. Роль нейтрофилов в реализации врожденного иммунного ответа на *H. pylori* - инфекцию**

Взаимодействие *H. pylori* с нейтрофилами начинается с того, что при попадании в макроорганизм бактерия контактирует с толл-подобными рецепторами (toll-like receptors - TLR) слизистых оболочек пищеварительного тракта. Эпителиоциты желудка экспрессируют TLR 2, 4, 5 и 9-го типов, которые, взаимодействуют с липопротеинами, липополисахаридами и флагеллинами бактерии [171]. Активация TLR влияет на секрецию цитокинов мукоцитами, воздействуя на дальнейший процессинг и презентацию антигенов инфекта клеткам хозяина [265]. Липопротеин *H. pylori* в 500-1000 раз менее агрессивен, чем липопротеины *Salmonella typhimurium*. Кроме того, липопротеины *H. pylori* имеют более низкую аффинность к липопротеин-связывающим рецепторам, и как следствие, инфект не вызывает выраженной активации неспецифического иммунного ответа [189]. Также контакт бактерии с клетками хозяина может происходить за счет субъединицы В уреазы *H. pylori*, которая способна связываться с рецепторами CD74, экспрессируемом на мембране эпителиоцитов слизистой оболочки желудка.

Контакт *H. pylori* с эпителиоцитами сопровождается адгезией микроорганизма. Адгезии *H. pylori* способствуют внешние мембранные белки, кодируемые геном *babA*. Адгезия *H. pylori* к эпителиоцитам способствует привлечению нейтрофилов посредством двух механизмов. Первый механизм представляет собой не прямое рекрутирование в результате взаимодействия субъединицы В уреазы с эпителиальными клетками, что приводит к выработке IL-8, являющегося мощным хемоаттрактантом для нейтрофилов. В процессе адгезии *H. pylori* к слизистой оболочке желудка быстро активируется продукция

эпителиоцитами нескольких видов протеинкиназ (ERK, p38, JNK). Они играют основную роль в регуляции уровня экспрессии генов, контролирующих пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток, стрессовую и воспалительную реакции [218, 274].

Второй механизм – это секреция *H. pylori* хемокинов, которые способны стимулировать привлечение нейтрофилов. При этом осуществляется выработка веществ напрямую самой бактерией (белок парА), так и опосредованно через индукцию к выработке хемоаттрактантов для фагоцитов собственными клетками организма, таких как, СХС и СС и внутриклеточного пептидогликана [83].

Когда фагоциты достигают бактериальной клетки, в последующем должна происходить адгезия лейкоцитов и макрофагов на поверхности бактерий, завершающаяся их фагоцитозом. В результате активации нейтрофилов в них активируются кислородозависимые бактерицидные механизмы и усиливаются процессы гликолиза. В результате образуются такие соединения, как миелопероксидаза, пероксид водорода, кальпротектин, дефенсины и синглетный кислород. Эти соединения обладают выраженными бактерицидными свойствами [154]. Однако, *H.pylori* запускает механизмы, препятствующие фагоцитозу. Во-первых, ферментативная система бактерии. Фермент уреазы способен оказывать прямое ингибирующее действие на фагоцитоз или посредством вырабатываемого аммиака, который разрушает мембрану фагоцитов, уменьшая их активность [234]. Супероксиддисмутаза, которая препятствует контакту бактериальной клетки с лейкоцитами, и каталаза, которая нейтрализует пероксид водорода в фагоцитарных вакуолях и предохраняет микроорганизм от действия активных радикалов, выделяемых макрофагами [154]. Во-вторых, гемагглютинины, находящиеся на поверхности мембраны *H. pylori*, тормозят процессы адгезии, что также препятствует фагоцитозу [119]. Следовательно, полного торможения фагоцитоза не происходит, однако уровень его оказывается низким. Так, в работе А.А. Степченко и соавторов (2009) при оценке показателей фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа было показано, что у больных с *H. pylori*-ассоциированной язвенной болезнью, инфицированных *saгА* штаммом, наблюдается значительное

снижение показателей фагоцитоза [143]. Полученными результатами М.И. Дворкин с соавторами (2012) также продемонстрировали снижение фагоцитарной активности нейтрофилов при *H. pylori* у больных хроническим гастритом. Кроме того, снижение фагоцитарной активности нейтрофилов сочеталось с усилением кислородзависимых и независимых механизмов микробицидности. Наблюдалось снижение способности нейтрофилов к адгезии и распластыванию клеток у таких больных, что отражает нарушение функционального состояния наружной мембраны клеток [40].

Фагоцитарную активность нейтрофилов характеризует интенсивность захвата микробов и их переваривание внутри фагоцита. Исследования, проведенные под руководством Н.М. Железняковой с соавторами (2005) показали, что у лиц, инфицированных *H. pylori* наблюдается снижение фагоцитоза. Они рассматривают этот процесс с точки зрения влияния бактерии на антимикробную устойчивость макроорганизма, следствием чего является напряженность неспецифических факторов защиты, проявляющееся в прорыве клеточного звена и развитии заболвания [46]. Авторы показали, что изменения в фагоцитарной активности нейтрофилов указывают на то, что увеличение незавершенности фагоцитоза может способствовать возникновению иммунологических нарушений и играет патогенетическую роль в становлении заболеваний. Также показано, что снижение фагоцитарной активности нейтрофилов может быть результатом ускоренного распада гранулоцитов, нарушением их подвижности и хемотаксиса, адгезивных или опсонизирующих свойств фагоцитов и сыворотки, нарушением эндоцитоза и внутриклеточного переваривания [46].

Несмотря на торможение фагоцитарной активности нейтрофилов, имеются сведения, что фагоцитоз *H. pylori* все-таки происходит, но облегчается опсонизацией бактерии специфическими антителами или продуктами комплемента. При этом количество убитых микробов зависит от соотношения числа фагоцитов и бактерий. Уничтожение *H. pylori* наблюдается только при избытке фагоцитов. В присутствии комплемента интернализация и морфологическая деструкция клеток *H. pylori* существенно повышаются.

Фагоцитоз неопсонированных *H. pylori* зависит от штамма, что коррелирует со способностью штаммов *H. pylori* стимулировать нейтрофильную продукцию токсических радикалов кислорода [69].

Известно, что *H. pylori* обладает способностью выживать внутриклеточно в фагоцитах около 3 часов (что превышает данные о других видах бактерий) при условии преобладания количества бактерий над фагоцитами [69]. Выживание *H. pylori* в фагоцитах обусловлено ее способностью продуцировать множество ферментов: уреазы, каталазы и супероксиддисмутаза. Эти ферменты нейтрализуют бактерицидные молекулы, образуемые в организме хозяина и помогающие *H. pylori* избежать разрушения в фагоцитах. Однако, при этом для нейтрофильных гранулоцитов характерно подавление поглотительной способности, сочетающееся при этом с высокой активностью к синтезу супероксидных радикалов, что усиливает активность воспалительного процесса [178].

Длительный воспалительный процесс приводит к накоплению циркулирующих иммунных комплексов, перегрузке нейтрофилов и снижению их функциональной активности [117]. Функциональное истощение нейтрофилов сопровождается их ускоренным распадом и нарушением внутриклеточного переваривания антигена. Подавление поглотительной способности нейтрофилов на фоне высокой активности к синтезу супероксидных радикалов, усиливает интенсивность воспалительного процесса [37, 105].

В исследованиях О.Н. Павлова (2011) было показано, что в клиническом анализе крови не выявлено выходящих за пределы значений контрольной группы показателей, кроме низкого содержания палочкоядерных нейтрофилов на фоне относительного лимфоцитоза [113]. В лейкоцитарной формуле общее количество нейтрофилов коррелирует с сегментоядерными нейтрофилами на фоне отрицательной корреляции между сегментоядерными и палочкоядерными нейтрофилами. Обнаруженный сдвиг лейкоцитарной формулы вправо наблюдается при эндогенной интоксикации, часто развивающейся при заболеваниях печени, почек, нарушении всасывания витамина В<sub>12</sub> обусловленного атрофией слизистой оболочки желудка [85, 113]. Наряду с этим в лейкограмме

выявлены обратные корреляции между количеством моноцитов и нейтрофилов, моноцитов и сегментоядерных нейтрофилов, которые являются признаками воспалительного заболевания с аутоиммунным компонентом и угнетением иммунологической защиты организма [39].

Таким образом, *H. pylori* оказывает влияние на нейтрофилы, активируя их к продукции АФК, что приводит к разрушению эпителиоцитов слизистой оболочки желудка. Но, в тоже время, бактерия использует нейтрофилы для внутриклеточного персистирования, угнетая фагоцитарную активность нейтрофилов и приводя к их гибели, что способствует срыву неспецифической резистентности.

### **1.2.2. Роль лимфоцитов в реализации адаптивного иммунного ответа на *H. pylori* –инфекцию**

В ответ на адгезию *H. pylori* эпителиоциты слизистой оболочки желудка продуцируют цитокины (IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-18, MCP-1), которые способствуют инфильтрации стенки желудка нейтрофилами и макрофагами. Они, в свою очередь, синтезируют IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , привлекая Th1-лимфоциты [109, 199, 203, 209, 211, 231, 257, 272]. Активированные лимфоциты запускают развитие клеточного иммунного ответа, который направлен на уничтожение патогена внутри инфицированной клетки [213]. При этом Th1-лимфоциты способны реализовать свою эффекторную функцию в двух направлениях.

Во-первых, Th1-клетки активируют макрофаги, передавая костимулирующий сигнал через взаимодействие CD154 (на поверхности Th1-клетки) с молекулой CD40 (на мембране макрофага), а также посредством цитокинов (IFN $\gamma$ , IL-2) [52]. Макрофаги уничтожают антигены за счет выработки бактерицидных компонентов (оксида азота и радикалов кислорода). Однако, *H. pylori* способна ингибировать действие активных веществ макрофагов за счет их нейтрализации каталазой и супероксиддисмутазой, что способствует его выживанию [127, 260]. Но при этом, активные формы кислорода, вырабатываемые макрофагами приводят к гибели

собственных клеток слизистой оболочки желудка, что увеличивает риск развития атрофии [69, 75].

Второй вариант Th1-ответа реализуется через цитотоксические Т-лимфоциты (Т-киллеры), которые запускают в инфицированных клетках-мишенях перфорин-гранзимовый механизм апоптоза. При этом разрушается и сама пораженная клетка, и внутриклеточный патоген в ней. Остатки погибших клеток утилизируются макрофагами [52].

Однако, в связи с тем, что *H. pylori* является внеклеточным патогеном, то со стороны иммунной системы организма должен активироваться именно гуморальный иммунный ответ, т.е. образование антител. Поэтому в данном случае активация клеточного иммунного ответа является «дефектной» и способствует персистенции патогена [158].

Причинами нарушения элиминации *H. pylori* также могут быть изменения количественного содержания и функционирования Т-лимфоцитов. Количество функционирующих лимфоцитов снижается в связи с воздействием на них факторов патогенности *H. pylori*, которые вызывают их апоптоз [272]. При этом Th1-лимфоциты более чувствительны к апоптозу, чем Th2-клетки, [241], что способствует формированию Th1-клеточного иммунодефицита [8]. Кроме снижения количества Т-лимфоцитов наблюдается изменение в субпопуляционном составе. Так, было показано, что при *H. pylori*-ассоциированном хроническом гастрите наблюдается снижение количества лимфоцитов с фенотипом CD4<sup>+</sup> (Т-хелперы), повышение супрессорной активности цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8) и содержания NK-клеток (CD16) в системном кровотоке [5, 8, 40]. Вероятно, изменение популяционного состава лимфоцитов может нарушать передачу сигнала об антигене и приводить к недостаточной активации АПК, что способствует формированию иммунотолерантности к бактерии и ее персистенции [158]. Следовательно, реализация клеточного иммунного ответа является неэффективной против *H. pylori*.

Развитие гуморального иммунного ответа, осуществляемого Th2-лимфоцитами также не приводит к уничтожению патогена [10, 16]. Для активации Th2-клеток

необходимо взаимодействие лимфоцитов с АПК (макрофагами, дендритными клетками и В-лимфоцитами), экспрессирующим молекулы II класса гистосовместимости, кроме того важны соответствующая стимуляция и окружение. Однако, при *H. pylori* инфекции активируются так называемые «непрофессиональные АПК» - мукоциты слизистой оболочки желудка, экспрессирующие DR-антигены, которые не обеспечивают процессинга *H. pylori*-антигенов [75]. Из-за чего полноценная антиген-специфическая реакция не реализуется, а эффект взаимодействия «непрофессиональных АПК» и Т-клеток в присутствии провоспалительных цитокинов сводится к развитию мононуклеарного воспаления в слизистой оболочке желудка [83, 229].

Таким образом, в реализации защитных механизмов против *H. pylori* происходит дисрегуляция Th1/Th2 иммунного ответа, в сторону Th1-типа, т.е. активации клеточного звена, в результате которого вместо уничтожения патогена происходит гибель иммунокомпетентных клеток, что вызывает срыв компенсаторного потенциала макроорганизма [4, 8, 69]. Запускаемый антигенами *H. pylori* гуморальный иммунный ответ также является недостаточным и способствует персистенции инфекции.

### **1.2.3. Роль системы цитокинов в межклеточной кооперации при *H. pylori*-инфекции**

Цитокины представляют собой низкомолекулярные белки, обладающие биологической активностью и продуцируются активированными клетками разных типов, преимущественно лимфоцитами, моноцитами, тканевыми макрофагами в ответ на внешний, внеклеточный стимул. В систему цитокинов входит большое количество молекул. В реализации иммунного ответа ведущая роль принадлежит интерлейкинам [62, 66, 136]. Цитокины, являясь ответом на различного рода воздействия, выступают в роли регуляторов всех основных этапов жизнедеятельности любой клетки организма, модулируя процессы пролиферации,

дифференцировки, миграции, специализированного функционирования и апоптоза [136, 150]. Способность регулировать перечисленные функции обусловлена тем, что после взаимодействия цитокинов с комплементарными рецепторами на поверхности клеток, сигнал через элементы внутриклеточной трансдукции передается в ядро, где активируются соответствующие гены и синтезируются специфические белки, которые регулируют перечисленные выше процессы [11].

*H. pylori* стимулирует запуск цитокинового каскада, который играет ключевую роль в реализации хронических воспалительных и деструктивных процессов в слизистой оболочке желудка. Одним из важных цитокинов в патогенезе *H. pylori* - ассоциированных заболеваний является IL-1 $\beta$ . Он один из первых включается в ответную защитную реакцию организма и играет ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета. Уровень IL-1 $\beta$  варьирует в зависимости от стадии и оказывает влияние на течение и исход заболевания [55, 89]. Клетками продуцентами IL-1 $\beta$  являются макрофаги, моноциты, лимфоциты, фибробласты. Цитокин активирует нейтрофилы (повышает хемотаксис и фагоцитоз), Т- и В-лимфоциты, стимулирует синтез белков острой фазы, цитокинов (IL-2, -3, -6, TNF- $\alpha$ ), молекул адгезии (Е-селектинов), прокоагулянтов, простагландинов, повышает цитотоксическую и бактерицидную активность, оказывает пирогенный эффект [66, 146, 150]. Эффекты IL-1 $\beta$  проявляются только после взаимодействия цитокина с рецептором IL-R. Антагонист рецептора IL-Ra обладает аффинностью к рецептору цитокина, выступает в роли регулятора экспрессии и функции IL-1 $\beta$ . Антагонист рецептора не проводит внутриклеточный сигнал, тем самым подавляет потенциально повреждающий провоспалительный эффект IL-1 $\beta$  [135, 167, 214].

Гиперсекреция IL-1 $\beta$  ассоциируется с тяжелым течением заболевания [139]. При высокой чрезмерной продукции цитокина наблюдается активное воспаление, приводящее к массивному повреждению клеток и тканей организма [133]. Кроме того, гиперпродукция IL-1 $\beta$  приводит к ингибированию выработки соляной кислоты в желудке, что способствует колонизации *H. pylori* [89]. В тоже время длительная гиперсекреция цитокина может привести к истощению резервных



возможностей клеток-продуцентов, а в последующем к иммунодефициту, способствующему формированию очага хронического воспаления [23].

IL-2 продуцируется преимущественно Т-хелперами 1 типа. К эффектам цитокина относятся инициация и регулирование преимущественно клеточного иммунного ответа, стимуляция пролиферации и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов в клетки-эффекторы, синтез цитокинов, антител [66, 68, 146, 150]. IL-2 также может оказывать иммуносупрессивные эффекты, участвуя в индуцированной активации клеточной гибели Т-лимфоцитов, а также в генерации и обеспечении гомеостаза регуляторных Т-клеток, ответственных за толерантность к аутоантигенам, в том числе и к опухолеассоциированным [170, 287].

Продукция IL-2 при *H. pylori*-инфекции приводит к атрофии и ингибированию желудочной секреции. Синтез IL-2 особенно активен у больных с преобладанием эрозивно-язвенных изменений слизистой [71]. Уровень и скорость продукции цитокина может играть амбивалентную роль в патогенезе гастродуоденальной патологии. С одной стороны, эффективное воспаление слизистой оболочки желудка будет препятствовать колонизации патогена. С другой стороны, выраженность воспаления коррелирует с деструкцией собственных тканей. Снижение цитокина является плохим прогностическим признаком, свидетельствующим о гибели клеток-продуцентов IL-2 [157].

Клетками-продуцентами IL-4 являются Th2-лимфоциты. IL-4 вызывает преимущественно гуморальный иммунитет, за счет активации Т- и В-лимфоцитов, синтеза иммуноглобулинов, прежде всего IgG и IgE. Кроме того, IL-4 ограничивает распространенность и интенсивность воспаления, ингибирует синтез макрофагами провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- $\alpha$ ), образование ими высокоактивных метаболитов кислорода, азота. При этом продукция IL-4 ингибирует экспрессию IL-2, запуская функционирование Т-хелперов 2 типа [52, 66, 146, 150]. Увеличение продукции IL-4 рассматривается как фактор, способствующий хронизации заболеваний, связанных с *H. pylori*-инфекцией [8].

IL-8 является наиболее изученным цитокином, связанным с вызываемым *H. pylori* воспалением. *H. pylori* стимулирует выработку IL-8 макрофагами и

эндотелиальными клетками слизистой оболочки желудка [210]. IL-8, индуцируя экспрессию молекул адгезии, опосредует взаимодействие лейкоцитов с эндотелием и последующую их направленную миграцию в очаг воспаления, стимулирует секрецию лизосомальных ферментов и бактерицидных факторов, продукцию активных форм кислорода и оксида азота, выделение супероксидных радикалов, опосредующих некробиотические процессы [66, 146, 150]. Активная воспалительная реакция в слизистой оболочке желудка при инфекции *H.pylori* характеризуется повышенным содержанием IL-8 [143, 174, 179, 182, 217].

IL-10, как и IL-4, являясь продуктом Т-хелперов 2 типа, участвует в реализации негативной регуляции провоспалительных функций иммунокомпетентных клеток, усиливает Th2-опосредованные реакции [66, 146, 150]. Этот цитокин нарушает дифференцировку, созревание и антигенпрезентирующую функцию дендритных клеток за счет снижения экспрессии МНС класса II и молекул костимуляции – CD80 и CD86. IL-10 ингибирует продукцию IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-12, TNF, IFN- $\gamma$  и хемокинов семейств CC и CXC, а также продукцию матриксных металлопротеиназ макрофагами; кроме этого, активирует В-клетки, стимулирует пролиферацию и продукцию цитокинов натуральными киллерами и является ростовым фактором для некоторых субпопуляций CD8+-лимфоцитов [242]. Увеличение продукции IL-10 ведет к снижению противoinфекционной защиты, развитию хронического персистирующего воспаления [215].

Уровень продукции цитокинов, а, следовательно, и исход патологического процесса детерминирован полиморфизмом генов интерлейкинов [258]. При гастродуоденальной патологии риск развития заболеваний, обусловленный полиморфизмом генов интерлейкинов был показан для IL1- $\beta$ , IL-2 и IL-8 [5, 7, 8, 9].

У лиц, гомо-или гетерозиготных по высокопродуцирующему аллелю IL1 $\beta$ (+3953) T, продуцируется, соответственно, в 4 и 2 раза большее количество этого цитокина, чем у лиц, гомозиготных по немутантному варианту этого гена (+3953 C). Полиморфизмы гена IL-1 $\beta$  и гена антагониста рецептора IL-1 обуславливают увеличение уровня IL-1 $\beta$  в слизистой оболочке желудка, что

способствует нарастанию признаков воспаления [35, 73]. Гомозиготный генотип GG -330 IL-2 ассоциирован с экспрессией продукта в наибольшем количестве, по сравнению с вариантами TG или TT [205]. В развитии воспалительной реакции при *H. pylori*-ассоциированных заболеваниях наиболее изучен полиморфизм в промоторном регионе -251 гена IL-8. Так, было показано, что мутантный гомозиготный генотип ассоциируется с развитием желудочной атрофии и аденокарциномы желудка (-251 A/A) [230, 247, 273], а гетерозиготный мутантный генотип (-251 A/T) – с повышенным риском развития язвенной болезни двенадцатиперстной кишки [5, 7, 202, 206]. Наличие мутантного аллеля А сопровождается гиперэкспрессией IL-8 и более мощным воспалительным ответом на инфицирование и персистенцию *H. pylori* [273].

Таким образом, *H. pylori* стимулирует процесс секреции целого ряда цитокинов, которые способствуют привлечению иммунокомпетентных клеток и развитию воспалительной реакции. При этом *H. pylori* способен управлять продукцией цитокинов, усиливая экспрессию одних и ингибируя выработку других. Также существенную роль в развитии *H. pylori* -ассоциированного воспаления играет полиморфизм генов цитокинов.

### Заключение

*H. pylori* представляет собой спиралевидную грамотрицательную бактерию, которая признана основным этиологическим фактором в развитии хронического гастрита, язвенной болезни и рака желудка. Инфицирование слизистой оболочки желудка *H.pylori* приводит к развитию острого воспалительного процесса, который сопровождается комплексом иммунологических реакций. Бактерия оказывает влияние на нейтрофилы, активируя их к продукции активных форм кислорода, что приводит к разрушению эпителиоцитов слизистой оболочки желудка. Персистируя в нейтрофилах хеликобактер угнетает их фагоцитарную активность и приводит к их гибели, что способствует срыву неспецифической резистентности. Также *H. pylori* направленно снижает выраженность клеточного иммунного ответа, путем запуска их апоптоза. Бактерия вызывает поляризацию иммунного ответа по Th1-пути, который является неэффективным по отношению

к внеклеточному возбудителю. В результате вызванных бактерией иммунологических реакций происходит гибель собственных клеток слизистой оболочки желудка, что увеличивает риск развития атрофии. Активация иммунной системы, запускаемая *H. pylori* сопровождается секрецией целого комплекса цитокинов. При этом бактерия также способна управлять их продукцией, усиливая экспрессию одних и ингибируя выработку других. Уровень продукции цитокинов, а, следовательно, и выраженность воспалительной реакции зависит от полиморфизма генов цитокинов.

При длительной персистирующей бактериальной инфекции создаются условия, в которых происходит снижение функциональной активности иммунокомпетентных клеток организма. Изучение состояния этих клеток позволит выявить механизмы нарушения иммунного ответа, которые могут быть использованы для ранней диагностики и лечения *H. pylori*-ассоциированного хронического гастрита. Основное внимание в данной работе мы сосредоточим на функционировании нейтрофилов и лимфоцитов, как ключевых клетках, реализующих иммунный ответ против *H. pylori*. Показателем функциональной активности нейтрофилов является способность к фагоцитозу, а лимфоцитов – продукция интерлейкинов. Особое внимание мы уделим интерлейкинам IL-1 $\beta$ , IL-8, запускающим воспалительную реакцию в слизистой оболочке желудка, а также IL-2, IL-4 и IL-10, детерминирующих дифференцировку Т-хелперов и участвующих в реализации специфического иммунного ответа.

Основная концепция работы основана на существовании отличий в протекании иммунного ответа при *H. pylori*-ассоциированном неатрофическом и атрофическом хронических гастритах. В литературе сведения о функционировании нейтрофилов и лимфоцитов в условиях хронического атрофического гастрита немногочисленны. Отсутствуют данные о нарушениях в иммунной системе, способствующих переходу неатрофического гастрита к атрофическому.

Таким образом, углубленное изучение функционального состояния иммунокомпетентных клеток в периферической крови и их кооперации позволит расширить существующие представления о патогенезе *H. pylori*-инфекции.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объект исследования

В основу работы положены результаты комплексного клинико-лабораторного обследования больных хроническим гастритом общей численностью 180 человек (77 мужчин и 103 женщины) в возрасте от 19 до 70 лет (средний возраст составил  $44,7 \pm 0,9$  лет). Контрольной группой служили 64 практически здоровых донора (27 мужчин и 37 женщин) в возрасте от 19 до 67 лет (средний возраст  $25,8 \pm 1,3$  лет).

В работе с обследованными пациентами соблюдались этические принципы, предъявляемые ст. 24 Конституции РФ и Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциацией [190]. Все пациенты были ознакомлены и подписали информированное согласие, подтверждающее их добровольное участие в исследовании.

Набор клинического материала осуществлялся у пациентов, находящихся на стационарном лечении в III терапевтическом отделении ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Я. Ремишевской». Набор материала осуществлялся при непосредственном участии врачей: Н.Н. Буторина – врача высшей категории, заведующего эндоскопическим отделением, канд. мед. наук и Н.А. Россовой – врача III категории терапевтического отделения.

Исследование проводилось на кафедре фундаментальной медицины и гигиены ФГБОУ ВПО «ХГУ им. Н.Ф. Катанова» (зав. кафедрой – докт. мед. наук, доцент Е. С. Агеева).

В клинические группы были включены пациенты с хроническим гастритом. I группа – пациенты с хроническим антральным поверхностным гастритом – «больные ПХГ» - 104 пациента. II группа – пациенты с хроническим атрофическим гастритом – «больные АХГ» - 76 пациентов. Структура выборки представлена в таблице 3. Среди обследованных было сопоставимое число мужчин и женщин.

Таблица 3 - Распределение обследованных пациентов с хроническим гастритом по возрасту и полу

Группы		Мужчины	Женщины
Здоровые доноры (n=64)	n	27	37
	возраст	24,4±1,7	26,7±1,9
Больные ПХГ (n=104)	n	45	59
	возраст	33,6±2,8	39,7±1,8
Больные АХГ (n=76)	n	32	44
	возраст	35,5±3,5	48,9±1,5

Диагноз хронический гастрит устанавливался при морфологическом исследовании в соответствии с классификацией, разработанной на основе Сиднейской системы с использованием эзофагогастродуоденоскопии ЭФГДС (оценивались признаки, разработанные на основе Лос-Анджелесской системы). Диагноз атрофический хронический гастрит уточняли с использованием классификации гастрита OLGA [263].

Обязательным критерием включения в группу исследования было наличие у пациентов *H. pylori*. Присутствие бактерий должно было быть подтверждено с помощью хотя бы одного из четырех методов: быстрого уреазного теста, серологического, гистобактериоскопического исследования биоптатов слизистой оболочки желудка и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В исследование не включались пациенты, имеющие сопутствующие острые и хронические заболевания в фазе обострения.

Больным, включенным в группы исследования, не должна была проводиться эрадикационная терапия, а также лечение следующими препаратами: антибактериальными, нестероидными противовоспалительными, ингибиторами протонной помпы, глюкокортикостероидами (в течение шести предшествующих месяцев).

Для отбора обследованных в контрольную группу являлись следующие критерии: отрицание острых респираторных заболеваний в течение предшествующих четырех недель, отсутствие терапии антибактериальными и нестероидными противовоспалительными препаратами, ингибиторами протонной

помпы, глюкокортикостероидами (в течение шести предшествующих месяцев), отсутствие на момент исследования *H.pylori*, подтвержденного одним из четырех методов: быстрым уреазным тестом, гистобактериоскопическим исследованием гастробиоптатов, серологическим и методом ПЦР.

Критериями исключения и условиями выхода пациентов из исследования на любом из этапов являлись: нежелание пациента принимать участие в исследовании, участие пациента в других исследованиях; наличие у пациента декомпенсированных сопутствующих заболеваний; прием в момент исследования или в течение четырех недель до включения в исследование ингибиторов протонной помпы/антибактериальных средств; алкоголизм и/или наркомания.

## 2.2. Материал исследования

Для исследования использовали венозную кровь и биоптаты слизистой оболочки желудка. Кровь забирали утром натощак из локтевой вены в количестве 10 мл в пробирку, содержащую 2,5% раствор ЭДТА. Биопсийный материал слизистой оболочки желудка получали при помощи прицельной биопсии. Биоптаты для выделения ДНК помещали в сухой эппендорф и затем замораживали при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## 2.3. Методы исследования

У всех обследованных устанавливали наличие *H.pylori* цитологическим методом, серологическим с помощью определения титра специфических антител к антигену *cagA H.pylori*, а также определяли виды и субтипы *H.pylori* в биоптатах слизистой оболочки желудка. Для оценки иммунного статуса у всех обследуемых проводили определение относительного и абсолютного количества лейкоцитов и их отдельных групп, фагоцитарной активности нейтрофилов, уровня спонтанной и ФГА-индуцированной продукции интерлейкинов IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10 методом иммуноферментного анализа, а также анализ аллельного полиморфизма

генов интерлейкинов. Распределение здоровых доноров и пациентов в зависимости от методов исследования представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Распределение здоровых доноров и пациентов в зависимости от методов исследования

Методы исследования	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
<b>I. Идентификация <i>H.pylori</i></b>			
Быстрый уреазный тест	Не проводилось	104	76
Цитологический метод определения <i>H.pylori</i> в мазках-отпечатках биоптатов слизистой оболочки желудка	Не проводилось	60	20
Определение специфических IgG к <i>H.pylori</i> в сыворотке крови методом ИФА	64	104	76
Определение видов и субтипов <i>H.pylori</i> в биоптатах слизистой оболочки желудка методом ПЦР-анализа	Не проводилось	60	48
<b>II. Оценка морфо-функциональных свойств слизистой оболочки желудка</b>			
Морфометрия структурных элементов слизистой оболочки желудка	Не проводилось	15	20
<b>III. Оценка клеточных и молекулярно-генетических показателей иммунитета</b>			
Определение общего количества лейкоцитов крови	33	44	28
Определение относительного и абсолютного количества лейкоцитов крови	33	44	28
Определение фагоцитарной активности нейтрофилов	33	44	28
Определение спонтанной и индуцированной (ФГА) цитокин-продуцирующей способности лейкоцитов IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10 в супернатантах методом ИФА-анализа	64	104	76
Анализ полиморфизма генов интерлейкинов IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8 методом рестрикционного анализа	64	60	48

### 2.3.1. Методы обнаружения *H.pylori*

#### 2.3.1.1. Цитологический метод оценки обсемененности слизистой оболочки желудка *H.pylori*

Метод основан на выявлении бактериальных клеток в мазках-отпечатках биоптатов (touch cytology) люминальной поверхности биоптата слизистой



оболочки желудка к предметному стеклу. Предметные стекла подсушивали на воздухе и фиксировали над пламенем спиртовой горелки в течение 20-30 сек на расстоянии не менее 10 см. После этого окрашивали по методу Романовского-Гимзе. Результаты оценивали при световой микроскопии под объективом 100 х окуляр 10 с иммерсией. Выявляли бактериальные клетки *H.pylori* специфической S-образной формы, расположенные в слизи. Регистрировали три степени обсемененности *H.pylori*: I степень - до 20 микробных тел в поле зрения, II степень – 20-40 микробных тел в поле зрения; III степень – более 40 микробных тел в поле зрения [129].

### **2.3.1.2. Определение специфических IgG к антигену *cagA H.pylori* в сыворотке крови**

Определение специфического IgG к антигену *cagA H.pylori* в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартного набора реагентов «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) согласно приложенной инструкции.

В лунки, сенсibilизированные антителами барана против IgG человека, добавляли 100 мкл неразведенной сыворотки и инкубировали 30 мин при 37°C. Затем после 5 раз промывки фосфатно-солевым буферным раствором с твином (ФСБ-Т-буфер) в каждую лунку добавляли 100 мкл комплекса антигена *H.pylori* с биотином и инкубировали при температуре 37°C в течение 30 мин. Лунки отмывали 5 раз ФСБ-Т буфером. В каждую лунку добавляли 100 мкл раствора субстрата (триметилбензидин и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) и инкубировали в течение 10 мин в темноте при комнатной температуре. Реакцию останавливали добавлением в лунки 50 мкл 2 Н раствора HCl.

Результаты ИФА регистрировали на спектрофотометре Immunochem 2100 («ThermoLabSistems», Финляндия). Оптическую плотность (ОП) измеряли при длине волны 450 нм. Нулевой уровень («бланк») задавали по воздуху. Результаты оценивались следующим образом: рассчитывали ОП критическое и ОП

исследования. При значении оптической плотности исследуемого образца ОП исследуемой пробы  $\leq$  (ОП критическое - 0,05), результат анализа считали отрицательным, т.е. IgG к *H. pylori* в данной сыворотке отсутствуют. При ОП исследуемой пробы  $>$  (ОП критическое + 0,05) результат исследуемого образца считали положительным, т.е. в данном образце сыворотки содержатся антитела к *H. pylori*.

### **2.3.1.3. Определение видов и субтипов *H. pylori* в биоптатах слизистой оболочки желудка**

Выделение ДНК *H.pylori* из биоптатов проводили с использованием наборов реагентов «Хеликопол» (НПФ «Литех», г. Москва). В эппендорф, содержащий биопсийный материал, добавляли 100 мкл лизирующего раствора (10 mM Трис-НСl (рН=8,8), 25 mM ЭДТА, 100 мкг/мл протеиназы К). Инкубировали в течение 4 ч (до полного растворения биопсийного материала) при температуре +65°C или в течение 12 ч при +37°C. К полученному раствору добавляли 10 мкл водной суспензии сорбента и 300 мкл буфера раствора I (10 mM Трис-НСl (рН=8,0), 5,5 M гуанидин тиоцианата и 10 mM ЭДТА). Суспензию инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин с периодическим встряхиванием на вортексе. После удаления супернатанта сорбент однократно промывали в 150 мкл промывочного раствора, а затем двукратно в 1000 мкл промывочного раствора. Перед использованием ДНК добавляли 50 мкл ТЕ-буфера – элюирующего раствора (10 mM Трис-НСl, 1 mM ЭДТА), инкубировали в течение 3 мин при +65°C с закрытой крышкой.

Наличие ДНК *H.pylori* проводили с использованием наборов реагентов «Хеликопол» (НПФ «Литех», г. Москва). В состав каждого набора были включены специфические праймеры для *cagA* (CA), *vacAs1* (VA), *vacAs2* (VA), *vacAm1* (VA), *vacAm2* (VA) с соответствующими контрольными ДНК *cagA*, *vacAs1* (K1), *vacAs2* (K2), *vacAm1* (K3), *vacAm2* (K4). Смесь для амплификации содержала: 3 мкл ПЦР-буфера, 3 мкл раствора дНТФ, 2,5 мкл MgCl<sub>2</sub>, 2 мкл смеси праймеров, 0,2 мкл Tag-

полимеразы (5ед/мкл), 14,3 мкл  $diH_2O$ , 5 мкл раствора ДНК (реактивы, входящие в состав набора «Хеликопол»). Реакционную смесь для проведения амплификации вносили в соответствующие пробирки со смесью под слой минерального масла.

Амплификацию проводили в термостате «Терцик» (ЗАО НПФ ДНК-технология, Москва), режим регулирования – точный; объем реакционной смеси – 40 мкл. Режим амплификации: +94°C в течение 60 сек – денатурация, +52°C в течение 60 сек отжиг праймеров, +72°C – элонгация 120 сек, +94°C в течение 60 сек – денатурация (35 циклов для *сagA*), затем при +72°C в течение 5 мин наработка продукта, хранение при +10°C.

Детекцию амплификатов проводили разделением смеси продуктов методом горизонтального электрофореза в 2-% агарозном геле с добавлением 10 мкл 1% раствора бромистого этидия на 100 мл раствора агарозы. Электрофорез проводили при напряжении 10-15 В/см геля. Визуализацию результатов электрофореза проводили при помощи УФ-трансиллюминатора.

Фрагменты ДНК у разных генотипов *H.pylori* имели следующие размеры: генотип *сagA* – 404 п.н., генотип *vacAs1*: 259 п.н.+ *vacAs2*: 286 п.н., *vacAm1*: 290 п.н., *vacAm2*: 352 п.н.

Результаты выражали следующим образом: при регистрации на электрофореграмме светящейся полосы определенного размера (пар нуклеотидов) говорили о присутствии данного гена у пациента, при отсутствии – результат расценивался как отрицательный.

#### **2.3.1.4. Морфометрия структурных элементов слизистой оболочки желудка**

Биопсийный материал готовили для гистологического исследования по общепринятой методике [116]. Для фиксации применяли 10 % нейтральный формалин, забуференный фосфатным буфером по Р. Лилли [84]. После суточной фиксации препараты промывали в проточной воде в течение 24 ч. Обезвоживание проводили по батарее спиртов с восходящей концентрацией (60°,70°,80°,90°,96°,100°) в течение 36 ч. Затем биоптаты последовательно

помещали в спирт : ксилол, три смены ксилола. В смесь ксилол : парафин (в соотношении 1 :1), после этого – в парафин с 5% воском, и последовательно еще в две порции парафина.

Заливку биоптатов осуществляли смесью «Гистомикс» при температуре +56°С. Готовые парафиновые блоки, ориентированные преимущественно перпендикулярно поверхности слизистой оболочки желудка, насаживали на деревянные кубики и готовили срезы на санном микротоме для гистологического исследования.

Оценку морфологических изменений слизистой оболочки желудка проводили методом световой микроскопии после окраски гематоксилином-эозином [80]. Срезы депарафинировали карбол-ксилолом, промывали 96° спиртом и водой в течение 1-2 мин и подсушивали фильтровальной бумагой. Далее докрашивали раствором гематоксилина. На хорошо расплавленный и промытый срез наливали несколько капель раствора эозина, после обрабатывали 96° спиртом. Не давая срезам просохнуть, быстро (на 2-3 мин) наливали ксилол до полного просветления срезов, остатки которого удаляли фильтровальной бумагой, наносили на срез каплю полистирола и покрывали покровным стеклом. Для затвердевания бальзама блоки на 40-60 мин ставили в прогретый термостат с температурой +18°С. в результате окраски ядра имели цвет от голубового до темно-фиолетового, цитоплазма клеток окрашивалась от нежно-розового до темно-вишневого оттенка.

Метод морфометрии структурных элементов слизистой оболочки желудка проводили с использованием наложения окулярной линейки и точечной сетки Г.Г. Автандилова [3]. Для верификации результатов морфологического исследования у каждого пациента оценивали достаточное количество срезов (от 4 до 8), полей зрения (от 10 до 12) и подсчитывали точки, необходимые для соответствия измеряемых элементов всей совокупности элементов ткани. Абсолютную численную плотность желез определяли с помощью окуляр-метрической линейки с последующим пересчетом на 1 мм<sup>2</sup> площади среза.

## 2.3.2. Методы оценки иммунного статуса

### 2.3.2.1. Определение общего количества лейкоцитов в периферической крови

Абсолютное и относительное содержание лейкоцитов в крови определяли стандартными гематологическими методами [59]. Относительное содержание лейкоцитов определяли путем подсчета клеток в мазке крови, окрашенной по Романовскому-Гимзе. Результаты выражали в относительных (%) и абсолютных значениях (кл/л).

### 2.3.2.2. Оценка интегральных лейкоцитарных индексов

Для комплексной оценки состояния организма в данном исследовании были использованы следующие интегральные индексы: индексы интоксикации – лейкоцитарный индекс интоксикации Рейса (ЛИИР), индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК); индексы неспецифической реактивности – лейкоцитарный индекс (ЛИ), ядерный индекс (ЯИ), индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ), индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ), индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов (ИСЛЭ), индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ).

Модифицированный лейкоцитарный индекс интоксикации Б.А. Рейса (ЛИИр) определяли по формуле [140]:

$$\text{ЛИИр} = (\text{сегментоядерные нейтрофилы} + \text{палочкоядерные нейтрофилы} + \text{юные нейтрофилы} + \text{метамиелоциты}) / (\text{моноциты} + \text{лимфоциты} + \text{эозинофилы}) \quad (1)$$

Ядерный индекс Даштаянца Г.Д. (ЯИ) определяли по формуле [140]:

$$\text{ЯИ} = (\text{моноциты} + \text{юные нейтрофилы} + \text{палочкоядерные нейтрофилы}) / \text{сегментоядерные нейтрофилы} \quad (2)$$

Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК)— отношение суммы эозинофилов, базофилов и нейтрофилов к сумме моноцитов и лимфоцитов [104]. ИСЛК определяли по формуле:

$$\text{ИСЛК} = (\text{эозинофилы} + \text{базофилы} + \text{нейтрофилы}) / (\text{моноциты} + \text{лимфоциты}) \quad (3)$$

Лимфоцитарный индекс (ЛИ) — отношение лимфоцитов к нейтрофилам (миелоциты, метамиелоциты — юные, палочкоядерные, сегментоядерные), отражает взаимоотношение гуморального и клеточного звена иммунной системы [65, 111]. Лимфоцитарный индекс (ЛИ) определяли по формуле:

$$\text{ЛИ} = \text{лимфоциты} / \text{нейтрофилы} \quad (4)$$

Индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов рассчитывали по формуле [111]:

$$\text{ИСЛЭ} = \text{лимфоциты} / \text{эозинофилы} \quad (5)$$

Индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ) отражает соотношение неспецифической и специфической защиты. Индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов определяли по формуле [104]:

$$\text{ИСНЛ} = (\text{палочкоядерные нейтрофилы} + \text{сегментоядерные нейтрофилы}) / \text{лимфоциты} \quad (6)$$

Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ) позволяет судить о соотношении компонентов микрофагально-макрофагальной системы. Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов определяли по формуле [104]:

$$\text{ИСНМ} = (\text{палочкоядерные нейтрофилы} + \text{сегментоядерные нейтрофилы}) / \text{моноциты} \quad (7)$$

Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ) отражает взаимоотношение аффлекторного и эффекторного звеньев иммунологического процесса. Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов определяли по формуле [104]:

$$\text{ИСЛМ} = \text{лимфоциты} / \text{моноциты} \quad (8)$$

Результаты выражали в условных единицах (у.е.).

### 2.3.2.3. Оценка фагоцитарной активности нейтрофилов

Для оценки фагоцитарной активности нейтрофилов в стерильную центрифужную пробирку вносили 0,6 мл 2% раствора цитрата натрия, 0,3 мл образца крови (стерильно взятой из локтевой вены) и 0,2 мл взвеси микроорганизмов. В качестве экспериментального микроорганизма использовали суточную чистую культуру *Staphylococcus aureus*. Затем смесь взбалтывали 5 минут и инкубировали в термостате при 37°C в течение 30 минут, затем центрифугировали при 1500 об/мин в течение 5 минут. Стерильной пастеровской пипеткой убирали слой плазмы в отдельную пробирку. Далее пастеровской пипеткой собирали лейкозвесь и готовили из нее 5–6 мазков. Мазки крови фиксировали спирто-эфирной смесью 5 минут и окрашивали красителем по Романовскому–Гимзе в течение 15–20 мин. Микроскопировали с иммерсионной системой. Просматривали не менее 10 полей зрения в каждом мазке, подсчитывали не менее 100 нейтрофилов. Оценку фагоцитарной активности нейтрофилов проводили путем определения фагоцитарного индекса (ФИ): процента фагоцитировавших клеток из числа сосчитанных нейтрофилов и фагоцитарного числа (ФЧ): среднее число микроорганизмов, поглощенных одним активным нейтрофилом. Результаты выражали в относительных (ФИ (%)) и абсолютных значениях (ФЧ (абс.ед.)) [123].

#### 2.3.2.4. Оценка спонтанной и индуцированной цитокин-продуцирующей способности мононуклеарных лейкоцитов

Полученную кровь, смешанную с ЭДТА в соотношении 4:1, инкубировали 45-60 мин при 37°C. Образовавшийся над эритроцитами слой плазмы собирали при помощи пастеровской пипетки и переносили в стерильную пробирку. Затем центрифугировали в течение 10 мин при 1000 об/мин. Надосадочную жидкость удаляли, осадок использовали для дальнейшего исследования [101].

Мононуклеарные лейкоциты выделяли из крови путем центрифугирования на слое фиколл-верографина, состоящей из 12-ти частей 9 % фиколла («Pharmacia» Швеция) и 3-х частей 33,9 % верографина ( $\rho=1,077$ ), в соотношении 1:4. Центрифугировали 30-40 мин при 1500 об/мин. Слой мононуклеаров в виде полосы белого цвета над сепарирующим раствором собирали пипеткой и трижды отмывали средой Хенкса по 10 мин при 1000 об/мин.

Выделенные клетки культивировали в течение 18 ч при температуре 37°C и 5 % CO<sub>2</sub> в полной культуральной среде (90 % RPMI-1640 («Вектор-Бест», Новосибирск), 10 % инактивированная эмбриональная телячья сыворотка («Биолот», Санкт-Петербург), 0,3 мг/мл L-глутамин). Без митогена для определения спонтанной продукции цитокинов и с добавлением 10 мкг/мл фитогемагглютинаина (ФГА) («Difco», Германия) для активации лимфоцитов при определении индуцированной продукции цитокинов.

Определение уровня цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10), продуцируемых мононуклеарными лейкоцитами проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) по инструкции, предлагаемой фирмой-производителем тест-систем («Вектор–Бест», Новосибирск).

В лунки, сенсibilизированные антителами, вносили раствор для разведения образцов и по 100 мкл исследуемых образцов, калибровочные и контрольные образцы. Инкубировали в течение 120 минут при температуре 37°C в термостатируемом шейкере с частотой 700 об/мин. После инкубации промывали лунки 5 раз раствором ФСБ-Т. Затем в лунки вносили биотинилированные антитела



к интерлейкинам и инкубировали в течение 120 минут при температуре 37°C в термостатируемом шейкере с частотой 700 об/мин. После инкубации промывали лунки 5 раз раствором ФСБ-Т. Затем в лунки вносили стрептавидин-пероксидазу хрена и инкубировали в течение 120 минут при температуре 37°C в термостатируемом шейкере с частотой 700 об/мин. После инкубации промывали лунки 5 раз раствором ФСБ-Т. В каждую лунку добавляли 100 мкл раствора субстрата (триметилбензидин и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) и инкубировали в течение 25 минут в темноте при комнатной температуре. Реакцию останавливали добавлением в лунки 50 мкл 2 Н раствора HCl. Учет результатов проводили с использованием спектрофотометра Immunochem 2100 («ThermoLabSistems», Финляндия). Оптическую плотность (ОП) измеряли при длине волны 450 нм. Нулевой уровень («бланк») задавали по лунке с буфером. Расчет производили, используя калибровочную кривую «оптическая плотность/концентрация», используя стандартные растворы с нарастающей концентрацией интерлейкинов.

### 2.3.2.5. Определение цитокиновых индексов

Для оценки баланса про-и противовоспалительных цитокинов рассчитывали их соотношение по формулам.

Индекс соотношения интерлейкина IL-1 $\beta$  к IL-10 отражает степень ингибирования IL-10 воспалительной реакции, вызываемой IL-1 $\beta$ . Цитокиновый индекс (ЦИ<sub>1</sub>) определяли по формуле [49]:

$$\text{ЦИ}_1 = \text{IL-1}\beta / \text{IL-10} \quad (9)$$

Повышение ЦИ<sub>1</sub> расценивали как активность воспалительной реакции, снижение как подавление воспаления и преобладание процессов супрессии иммунного ответа.

Индекс соотношения интерлейкина IL-1 $\beta$  к IL-4 отражает преобладание общей воспалительной реакцией над дифференцировкой и пролиферацией Т-лимфоцитов. Цитокиновый индекс (ЦИ<sub>2</sub>) определяли по формуле [159]:

$$\text{ЦИ}_2 = \text{IL-1}\beta/\text{IL-4} \quad (10)$$

Индекс соотношения IL-2/IL-4 позволяет оценить преобладание клеточного и гуморального иммунного ответа, который регулируется Т-лимфоцитами Th1 и Th2-типа. Цитокиновый индекс (ЦИ<sub>3</sub>) определяли по формуле [159]:

$$\text{ЦИ}_3 = \text{IL-2}/\text{IL-4} \quad (11)$$

С помощью индекса соотношения IL-2/IL-10 оценивали преобладание процесса дифференцировки лимфоцитов над процессом супрессии иммунного ответа. Цитокиновый индекс (ЦИ<sub>4</sub>) определяли по формуле [26]:

$$\text{ЦИ}_4 = \text{IL-2}/\text{IL-10} \quad (12)$$

Индекс соотношения IL-8/IL-4 показывает преобладание провоспалительных процессов над противовоспалительными. Цитокиновый индекс (ЦИ<sub>5</sub>) определяли по формуле [49]:

$$\text{ЦИ}_5 = \text{IL-8}/\text{IL-4} \quad (13)$$

Индекс соотношения IL-8/IL-10 позволяет оценить активность воспаления. Цитокиновый индекс (ЦИ<sub>6</sub>) определяли по формуле [233]:

$$\text{ЦИ}_6 = \text{IL-8}/\text{IL-10} \quad (14)$$

Где ЦИ – цитокиновый индекс.

Результаты выражали в условных единицах (у.е.).

### 2.3.2.6. Анализ аллельных вариантов генов интерлейкинов

ДНК из клеток крови выделяли фенольным методом [227]. В эппендорфы, содержащие 100 мкл сыворотки исследуемого образца, добавляли 100 мкл буфера для разведения (50 мМ Трис-НСl (рН=7,5-8,0), содержащий 20 мМ ЭДТА). Перемешивали на вортексе и инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре. Затем добавляли 200 мкл лизирующего буфера (1 % SDS, 0,2 М NaOH). Перемешивали на вортексе и инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре. Перед выделением буфер для разведения и лизирующий буфер прогревали при 65 °С 10-15 минут, добавляли 120 мкл денатурирующего раствора (фенол (нижняя фракция коричневатого цвета) : хлороформ 1:1), тщательно перемешивали на вортексе до получения однородной консистенции молочного цвета. Затем добавляли 150 мкл 3М СН<sub>3</sub>COONa (рН=4,8), перемешивали на вортексе и инкубировали в течение 10 мин при -20 °С. После этого центрифугировали 5 мин при 10000 об/мин. Супернатант в объеме 500 мкл инкубировали 20 минут при -20 °С с 1 мл 96 % этилового спирта. Центрифугировали 5 минут при 10000 об/мин. К супернатанту добавляли 1 мл 75 % этилового спирта, перемешивали переворачиванием, затем центрифугировали в течение 5 минут при 10000 об/мин. После центрифугирования супернатант отбрасывали, осадок высушивали, поместив пробирку с открытой крышкой в термостат при 65 °С на 5—10 минут. Перед использованием ДНК добавляли 50 мкл ТЕ-буфера - элюирующего раствора (10 мМ Трис-НСl, 1мМ ЭДТА), инкубировали 3 минуты при 65 °С с закрытой крышкой.

Аmplификацию для определения полиморфизма генов цитокинов (IL- 1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10) осуществляли методом рестрикционного анализа продуктов амплификации специфических участков генома. Смесь для амплификации содержала: 0,5 мкл R- и F-праймера (таблица 5), 1,5 мкл 25 мМ MgSO<sub>4</sub>, 1,5 мкл дНТФ, 1,5 мкл 10x буфера, 0,15 мкл Tag-полимеразы, 8,35 мкл diH<sub>2</sub>O, 1 мкл ДНК, минеральное масло. Режим амплификации: 92°С в течение 90 сек - денатурация, 40 циклов (+60 °С в течение 30 сек отжиг праймеров, 74 °С в течение элонгация 30

сек, 92 °С денатурация 30 сек, затем при 72°С в течение 10 минут - наработка продукта, хранение при +10 °С).

Аmplификацию проводили в программируемом прогретом до 94 °С термостате для проведения ПЦР-анализа («Терцик», ЗАО НПФ ДНК- технология, г. Москва). К ампликату добавляли смесь для рестрикции: 0,15 мкл фермента, содержащего 3 ед., 0,15 мкл BSA, 1,5 мкл буфера из расчета на 1 пробу. Инкубировали при 37 °С либо при 65 °С в течение 12 ч.

Детекцию продуктов амплификации (рисунок 3-5) проводили в 4 % агарозном геле с содержанием 0,1 % водного раствора бромистого этидия («Sigma», USA). В качестве маркера размера ДНК использовали плазмиду рUC19, расщепленную рестриктазой MspI («Сибэнзим», г. Новосибирск).

Таблица 5 - Характеристика исследованных полиморфизмов генов  
ЦИТОКИНОВ

Полиморфизм	Структура праймеров, 5'→3'	Рестрик таза	Размер продукта
IL-1β (+3953) С/Т	F:GTTGTCATCAGACTTTGACC R:TTCAGTTCATATGGACCAGA	Taq I	СС-114 и 135 СТ – 114, 135 и 249 ТТ - 249
IL-2 (-330) Т/Г	F:CACAATATGCTATTTCACATGTTC AGTTAGTCATA R:TACCTTCATTTTTCCTCTCT	FauND I	ТТ-217 ГТ-217 и 252 ГГ-252
IL-8 (-251) А/Т	F: TGTTCTAACACCTGCCACTCTAGTA R:TTATGCACCCTCATCTTTTCATTA Т	Mfe I	АА – 79 и 212 ТА – 79,212 и 291 ТТ - 291

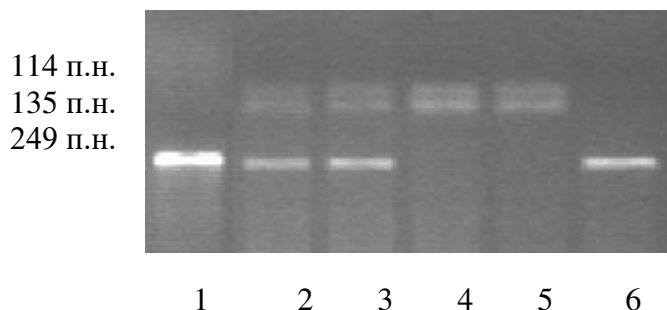


Рисунок 3 - Примеры идентификации генотипов по гену IL-1β С+3953Т: 1 – контроль амплификации (249 п.н.); 2, 3 – генотип IL-1β +3953 СТ; 4, 5 – генотип IL-1β +3953 СС; 6 – генотип IL-1β +3953 ТТ

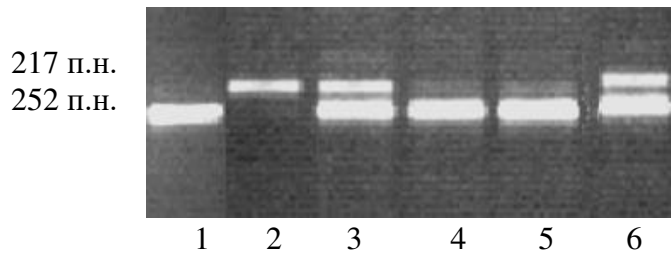


Рисунок 4 - Примеры идентификации генотипов по гену IL-2 -330 T/G: 1 – контроль амплификации, 2 – генотип IL2 -330 TT; 3, 6 – генотип IL2 -330 GT; 4, 5 – генотип IL2 -330 GG

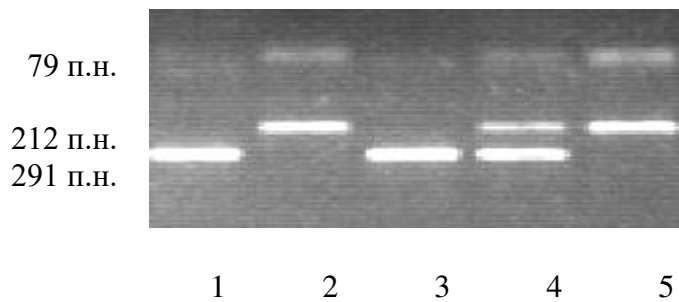


Рисунок 5 - Примеры идентификации генотипов по гену IL-8 -251 T > A: 1 – контроль амплификации; 2, 5 – генотип IL-8 -251 AA; 3 – генотип IL-8 -251 TT; 4 – генотип IL-8 -251 TA

### 2.3.3. Статистический анализ

Статистический анализ производился с помощью пакета программ «Statistica 10» и Microsoft Excel.

Для проверки нормальности распределения показателей использовали критерий Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса. При нормальном распределении количественных переменных двух групп для проверки статистической значимости различий показателей в сравниваемых группах использовали параметрический t-критерий Стьюдента. Результаты измерений морфологических изменений слизистой оболочки желудка представлены в виде  $M \pm m$ , где «M» - среднее арифметическое значение, а «m» - относительная ошибка средней [82]. В таком виде представлены показатели морфологических изменений слизистой оболочки желудка.

В случае ненормального распределения использовали непараметрические критерии Манна-Уитни для независимых выборок и Вилкоксона – для зависимых выборок. Вычисляли медиану (Me) и интерквартильный размах в виде 25 и 75 перцентилей (C25-C75). Критическое значение уровня значимости принималось равным 5 %. В таком виде представлены количество лейкоцитов, лейкоцитарные

индексы, фагоцитарная активность нейтрофилов и цитокин-продуцирующая способность лейкоцитов.

Для корреляционного анализа использовали г-критерий Спирмена. Для установления взаимосвязи между исследованными признаками использовали факторный, кластерный и дискриминантный анализы.

При описании генетических характеристик исследованных групп использовали следующие методы: распределение гентипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия  $\chi^2$ . Для проверки значимости общей меры связи использовали критерий  $\chi^2$  Мантела-Ханзела, позволяющий оценить значение критерия отношения шансов (OR - Odds Ratio) с расчетом для него 95 % доверительного интервала (CI - Confidence Intervals) [237].

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Клинико-морфологическая характеристика больных с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом

При анализе жалоб пациентов с ХГ были выявлены следующие: раздражительность, быстрая утомляемость (52,1 %), головная боль, слабость (21,2 %), боль в области эпигастрия (80,2 %), тошнота (32,7 %), отрыжка (64,3 %), тяжесть в эпигастрии (59,1 %) (рисунок 6).

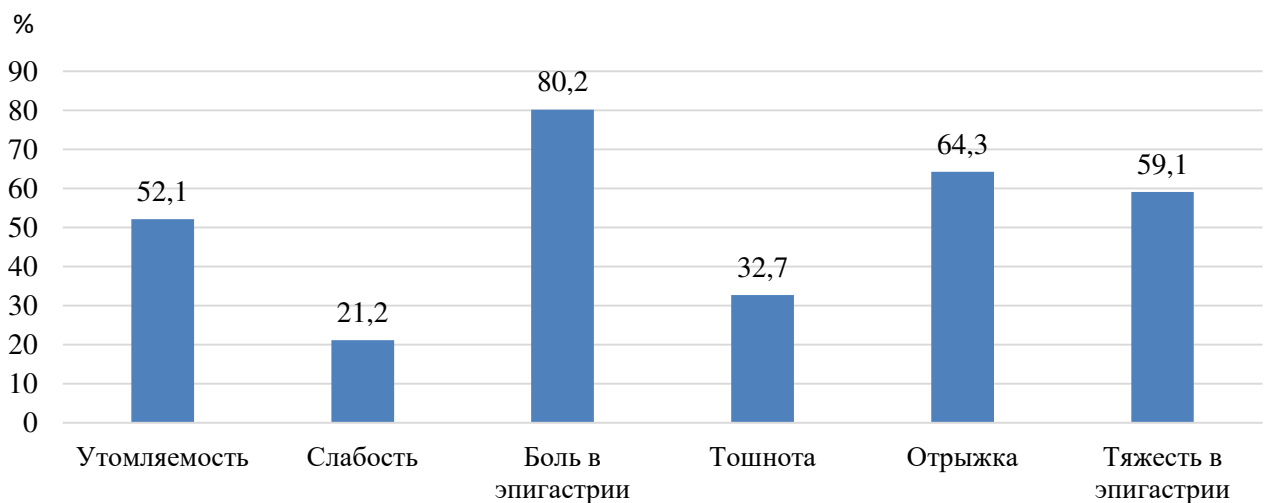


Рисунок 6 - Распределение жалоб у больных с *H.pylori*- ассоциированным хроническим гастритом

При исследовании структуры слизистой оболочки антрального отдела были получены следующие результаты. У больных с АХГ по большой кривизне желудка наблюдалось увеличение высоты поверхностного эпителия, ширины и глубины ямок железистого эпителия, по сравнению с ПХГ. Так, у больных с АХГ эти показатели составили  $19,9 \pm 1,35$  мкм;  $37,5 \pm 1,13$  мкм и  $187,8 \pm 6,53$  мкм, соответственно. При ПХГ эти показатели были выявлены на уровне –  $18,7 \pm 0,78$  мкм,  $22,8 \pm 0,89$  мкм и  $130,6 \pm 11,73$  мкм, соответственно. По мере развития атрофических изменений также отмечалось снижение высоты железистого эпителия:  $9,3 \pm 0,79$  мкм при АХГ и  $11,7 \pm 0,98$  мкм при ПХГ (таблица 6).

Таблица 6 - Показатели морфологических изменений слизистой оболочки желудка у больных с *H. pylori*- ассоциированным хроническим гастритом

Показатели	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
Высота поверхностного эпителия, мкм	18,7±0,8	19,9±1,4
Высота железистого эпителия, мкм	11,7±0,9	9,3±0,8
Ширина ямки, мкм	22,8±0,9	37,5±1,1 <b>P&lt;0,05</b>
Глубина ямки, мкм	130,6±11,7	187,8±6,5 <b>P&lt;0,05</b>

Примечание: P - достоверность различий по сравнению с группой больных с поверхностным хроническим гастритом.

Кроме того, было выявлено снижение относительного количества главных и обкладочных клеток, уменьшение плотности желез при АХГ относительно ПХГ (таблица 7).

Таблица 7 - Количественное соотношение показателей морфометрии слизистой оболочки желудка у больных с *H. pylori*- ассоциированным хроническим гастритом

Показатели	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
Относительное количество главных клеток, %	39,8±1,8	28,7±2,0
Относительное количество обкладочных клеток, %	25,5±1,3	19,7±1,0
Относительное количество добавочных клеток, %	34,7±1,2	51,6±2,2 <b>P&lt;0,05</b>
Плотность желез, мм <sup>2</sup>	231,6±8,6	124,7±9,9 <b>P&lt;0,05</b>

Примечание: P - достоверность различий по сравнению с группой больных с поверхностным хроническим гастритом.

При этом относительное количество добавочных клеток у больных с АХГ было выше, чем у больных с ПХГ и составило 51,6±2,2% и 34,7±1,2% соответственно. Данный факт свидетельствует о более агрессивном течении атрофического гастрита, по сравнению с поверхностным.

Таким образом, в обеих группах больные с АХГ и ПХГ характеризуются однонаправленными процессами: увеличение ширины и глубины желудочных



ямок, снижение высоты поверхностного эпителия, количества главных и обкладочных клеток и плотности желез.

### 3.2. Характеристика распределения *H. pylori* у больных с хроническим гастритом

Результаты определения титра специфических антител IgG к антигену *cagA H. pylori* больных с хроническим гастритом представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Титр специфических антител IgG к *cagA H. pylori* у обследуемых пациентов

Результат	Титр антител	Количество больных			
		Больные с ПХГ		Больные с АХГ	
		%	Абс.	%	Абс.
Слабоположительный	1:5	20,4	9	14,3	4
Положительный	1:10	6,8	3	10,7	3
	1:20	13,6	6	35,7	10
Сильноположительный	1:40	13,6	6	10,7	3
	1:80	45,6	20	28,6	8

По данным серологического исследования в группе больных с ПХГ у 20,4 % больных наблюдался титр антител 1:5 и у 79,6 % - выше 1:10. Наибольшее количество больных имело титр антител от 1:20 до 1:80 – 45,6 %.

У больных с АХГ титр антител 1:5 наблюдался у 14,3 % больных, у 75,7 % пациентов титр антител был выше 1:10. Причем, у большинства пациентов титр антител был равен 1:20 и выше. Между больными с ПХГ и АХГ не были выявлены достоверные различия в содержании титра специфических антител к *cagA H. pylori*.

По результатам уреазного теста и цитологического исследования мазков-отпечатков биоптатов слизистой оболочки желудка, установлено, что у больных *H. pylori* определялся у 89,2 % пациентов с хроническим гастритом (рисунок 7).

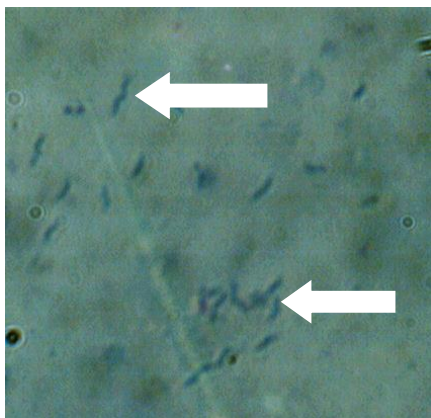


Рисунок 7 - Мазок-отпечаток биоптата слизистой оболочки желудка больного Я., 43 г. Диагноз: хронический атрофический гастрит. На рисунке показаны вегетативные формы *Helicobacter pylori*. Ув. х 1000

Результаты оценки степени обсемененности *H. pylori* слизистой оболочки желудка при использовании цитологического метода, представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Характеристика степени обсемененности слизистой оболочки желудка у пациентов с *H. pylori*-ассоциированными заболеваниями

Степень обсемененности	Больные с ПХГ		Больные с АХГ	
	%	Абс.	%	Абс.
I	30,0	13	42,8	12
II	33,3	15	38,8	11
III	36,7	16	18,4	5
			<b>P&lt;0,05</b>	

Примечание: P - достоверность различий по сравнению с группой больных с поверхностным хроническим гастритом.

При АХГ наиболее выражена была доля пациентов с I степенью обсемененности *H. pylori* слизистой оболочки желудка, при ПХГ - с III степенью обсемененности. Межгрупповой анализ показал, что у больных при АХГ II степень обсемененности слизистой оболочки желудка встречалась чаще, чем у больных ПХГ, хотя различия не носили статистически значимого характера. В то же время III степень обсемененности у пациентов с АХГ встречалась статистически значимо реже, чем у больных с ПХГ ( $p<0,05$ ).

Изучение распределения генотипов *H. pylori* показало, что у больных с ПХГ *saqA* штаммы *H. pylori* встречались реже (78,3 %), чем у больных с АХГ (83,7 %). *VacA* штаммы встречались у 100,0 % больных ПХГ и 97,9 % пациентов с АХГ (рисунок 8).

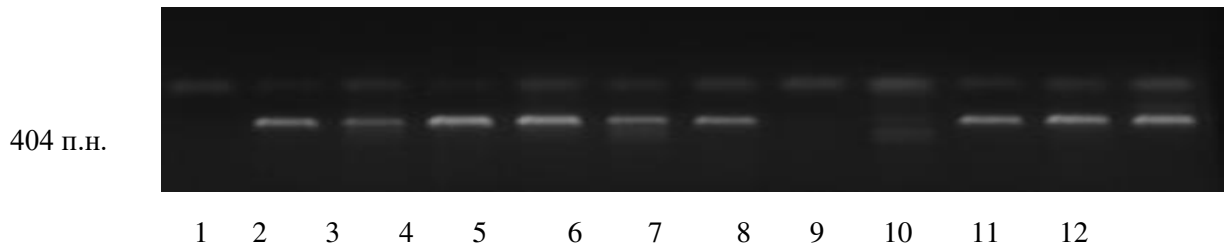


Рисунок 8 - Электрофореграмма субтипов *H. pylori* по гену *cagA*

Примечание: 2-7, 10,11 – образцы больных, носителей *cagA*-генов (*cagA*+); 8,9 – образцы больных, в биоптатах которых *cagA*-гены не обнаружены (*cagA*-); 1 – отрицательный контроль; 12 – положительный контроль амплификации *cagA* (404 п. н.)

В исследуемых группах содержание *vacA* s1 штаммов *H. pylori* не имело статистически значимых различий: при ПХГ – 28,3 %, при АХГ – 24,5 % (таблица 10).

Таблица 10 - Распределение генотипов *H. pylori* в слизистой оболочке желудка у больных с поверхностным и атрофическим гастритами

Генотипы <i>H. pylori</i>	Больные с ПХГ		Больные с АХГ	
	%	n	%	n
<i>cagA</i>	78,3	34	83,7	23
<i>vacA</i>	100,0	44	97,9	27
<i>vacA</i> s1	28,3	12	24,5	7
<i>vacA</i> s2	41,7	18	38,8	11
<i>vacA</i> s1s2	28,3	12	24,5	7
<i>vacA</i> m1	61,7	27	32,6 <b>P&lt;0,05</b>	9
<i>vacA</i> m2	10,0	4	12,2	3
<i>vacA</i> m1m2	10,0	4	14,2	4

Примечание: P -достоверность различий по сравнению с группой больных с поверхностным хроническим гастритом.

Частота встречаемости *vacA* s2 штаммов у больных ПХГ составила 41,7 % и АХГ - 38,8 %. Встречаемость смешанных генотипов *vacA* s1s2 наблюдалась реже других и достигала в группе больных с ПХГ – 28,3 %, в группе с АХГ – 24,5 %. При ПХГ было выявлено явное преобладание *vacA* m1 штаммов *H. pylori* (61,7 %), по сравнению с их содержанием у больных с АХГ (32,6 %) ( $\chi^2=16,78$ ;  $p\leq 0,05$ ).

Инфицирование *vacA* m2 штаммами *H. pylori* встречались с одинаковой частотой как при ПХГ (10,0 %), так и при АХГ (12,2 %). Смешанные изоляты *vacA* m1m2 чаще встречались у больных АХГ (14,2 %), по сравнению с их содержанием у больных ПХГ (10,0 %).

### 3.3. Оценка количественного содержания лейкоцитов в периферической крови у больных с *H. pylori* -ассоциированным хроническим гастритом

Общее количество лейкоцитов в периферической крови у больных с ПХГ составило 5,9 (4,8-7,1) $\times 10^9$ /л, у больных с АХГ - 5,9 (3,7-8,1) $\times 10^9$ /л. Данные значения увеличивались по сравнению с группой контроля (5,3 (4,3-6,5) $\times 10^9$ /л), хотя и не имели статистически значимых различий.

В группе больных с ПХГ относительное количество лейкоцитов в лейкоцитарной формуле изменялось не значительно и характеризовалось достоверным повышением количества эозинофилов [1,0 (0,3-3,0)%; при  $p=0,042$ ] и палочкоядерных нейтрофилов [5,9 (1,8-10,3)%; при  $p=0,025$ ] по сравнению с группой контроля [0,2 (0,0-1,2)% и 2,0 (0,9-3,7)% соответственно] (таблица 11).

Таблица 11 - Относительное содержание лейкоцитов в периферической крови у больных с *H. pylori* -ассоциированным хроническим гастритом

Лейкоциты	Группы обследуемых		
	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
Базофилы, %	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,8)	1,6 (0,5-2,1) $P_1=0,0001; P_2=0,003$
Эозинофилы, %	0,2 (0-1,2)	1,0 (0,3-3,0) $P_1=0,042$	3,7 (1,9-5,6) $P_1=0,0001; P_2=0,002$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	2,0 (0,9-3,7)	5,9 (1,8-10,3) $P_1=0,025$	6,1 (3,0-7,1) $P_1=0,001$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	59,3 (51,8-61,8)	42,8 (35,3-57,8)	36,9 (29,8-46,0) $P_1=0,001; P_2=0,028$
Лимфоциты, %	39,0 (28,7-43,3)	38,6 (31,3-50,1)	45,3 (37,4-51,1)
Моноциты, %	1,5 (0,2-3,5)	1,9 (0,9-4,1)	4,0 (2,6-7,0) $P_1=0,006; P_2=0,004$

Примечание:  $P_1$  -достоверность различий по сравнению с группой здоровых доноров;  $P_2$  -достоверность различий по сравнению с группой больных с поверхностным хроническим гастритом.

Содержание базофилов и лимфоцитов соответствовало значениям в группе контроля [количество базофилов у больных с ПХГ – 0,0 (0,0-0,8) %; в контрольной группе - 0,0 (0,0-0,0) %; количество лимфоцитов: у больных с ПХГ – 38,6 (31,3-50,1) %; в контроле – 39,0 (28,7-43,3) %]. Относительное количество сегментоядерных нейтрофилов снижалось по сравнению с группой здоровых доноров и было равно 42,8 (35,3-57,8) % и 59,3 (51,8-61,8) % соответственно, при этом различия не являлись достоверными. Число моноцитов у больных с ПХГ увеличивалось относительно группы сравнения и достигало 1,9 (0,9-4,1) % и 1,5 (0,2-3,5) % соответственно, что не имело статистически значимых различий.

При оценке относительного содержания лейкоцитов у больных с ПХГ были выявлены корреляции между популяциями лейкоцитов. Обратная корреляционная связь была обнаружена между количеством сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов ( $r=-0,62$ ;  $p<0,05$ ); числом сегментоядерных нейтрофилов и базофилов ( $r=-0,51$ ;  $p<0,05$ ) и уровнем сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов ( $r=-0,60$ ;  $p<0,05$ ). Прямая зависимость была установлена между количеством палочкоядерных нейтрофилов и базофилов ( $r=0,54$ ;  $p<0,05$ ), а также содержанием палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов ( $r=0,52$ ;  $p<0,05$ ).

У больных с АХГ изменения в лейкоцитарной формуле были более выражены по сравнению с группой здоровых доноров и больными ПХГ. Относительное содержание сегментоядерных нейтрофилов у больных с АХГ статистически значимо уменьшалось по сравнению с группой контроля (при  $p=0,001$ ) и больными ПХГ ( $p=0,028$ ) и составило 36,9 (29,8-46,0) %. На фоне относительного снижения сегментоядерных нейтрофилов у больных с АХГ происходило достоверное повышение молодых форм палочкоядерных нейтрофилов [6,1 (3,0-7,1) %; при  $p=0,001$ ]; базофилов [1,6 (0,5-2,1) %; при  $p_1 = 0,0001$ ;  $p_2=0,003$ ]; эозинофилов [3,7 (1,9-5,6) %; при  $p_1=0,0001$ ;  $p_2=0,002$ ] и моноцитов [4,0 (2,6-7,0) %;  $p_1=0,006$ ;  $p_2=0,004$ ] относительно группы здоровых доноров и больных ПХГ. Количество лимфоцитов в периферической крови больных АХГ увеличивалось относительно контрольной группы и было равно 45,3 (37,4-51,1) %, хотя и не имело статистически значимых различий. Корреляционный анализ показал наличие

обратной связи между количеством сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов ( $r=-0,81$ ;  $p<0,05$ ).

В группе больных с ПХГ абсолютное содержание лейкоцитов не имело статистически значимых различий по сравнению с группой контроля (таблица 12). При этом количество базофилов ( $0,0 (0,0-0,1) \times 10^9/\text{л}$ ); эозинофилов ( $0,0 (0,0-0,1) \times 10^9/\text{л}$ ); палочкоядерных нейтрофилов ( $0,1 (0,1-0,4) \times 10^9/\text{л}$ ) и моноцитов ( $0,1 (0,0-0,6) \times 10^9/\text{л}$ ) соответствовали значениям данных показателей в группе здоровых доноров (базофилы –  $0,0 (0,0-0,0) \times 10^9/\text{л}$ ; эозинофилы -  $0,0 (0,0-0,1) \times 10^9/\text{л}$ ; палочкоядерные нейтрофилы -  $0,1 (0,0-0,2) \times 10^9/\text{л}$ ; моноциты -  $0,1 (0,0-0,2) \times 10^9/\text{л}$ ).

Таблица 12 - Абсолютное содержание лейкоцитов в периферической крови у больных с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом

Лейкоциты	Группы обследуемых		
	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
Базофилы, $\times 10^9/\text{л}$	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,1)	0,1 (0-0,3) <b><math>P_1=0,0001</math>; <math>P_2=0,0001</math></b>
Эозинофилы, $\times 10^9/\text{л}$	0,0 (0,0-0,1)	0,0(0,0-0,1)	0,1(0-0,4) <b><math>P_1=0,046</math>; <math>P_2=0,042</math></b>
Палочкоядерные нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	0,1 (0,0-0,2)	0,1(0,1-0,4)	0,3 (0,2-0,4) <b><math>P_1=0,019</math>; <math>P_2=0,032</math></b>
Сегментоядерные нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	2,9 (2,4-4,1)	2,5 (1,3-3,3)	2,1 (1,3-4,6)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,7 (1,6-2,8)	2,3 (1,9-2,8)	2,9 (2,2-3,5)
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,1 (0-0,2)	0,1 (0-0,6)	0,4 (0,3-1,0) <b><math>P_1=0,001</math>; <math>P_2=0,007</math></b>

Примечание:  $P_1$  - достоверность различий по сравнению с группой здоровых доноров;  $P_2$  - достоверность различий по сравнению с группой больных с поверхностным хроническим гастритом.

Число сегментоядерных нейтрофилов снижалось ( $2,5 (1,3-3,3) \times 10^9/\text{л}$ ), количество лимфоцитов повышалось ( $2,3 (1,9-2,8) \times 10^9/\text{л}$ ) относительно контрольной группы ( $2,9 (2,4-4,1) \times 10^9/\text{л}$  и  $1,7 (1,6-2,8) \times 10^9/\text{л}$  соответственно). У больных с ПХГ была установлена прямая зависимость между абсолютным количеством сегментоядерных нейтрофилов и лейкоцитов ( $r=0,51$ ;  $p<0,05$ ) и содержанием лимфоцитов и лейкоцитов ( $r=0,55$ ;  $p<0,05$ ).

Абсолютное содержание отдельных популяций лейкоцитов у больных АХГ достоверно отличалось от здоровых доноров и пациентов с ПХГ. У больных с АХГ наблюдалось статистически значимое повышение базофилов  $[0,1 (0,0-0,3) \times 10^9/\text{л};$  при  $p_1=0,0001; p_2=0,0001]$ ; эозинофилов  $[0,1 (0,0-0,4) \times 10^9/\text{л};$  при  $p_1= 0,046; p_2= 0,042]$ ; палочкоядренных нейтрофилов  $[0,3 (0,2-0,4) \times 10^9/\text{л};$  при  $p_1=0,019; p_2=0,032]$  и моноцитов  $[0,4 (0,3-1,0) \times 10^9/\text{л};$  при  $p_1=0,001; p_2=0,007]$  по сравнению с группой контроля и больными ПХГ. Абсолютное количество сегментоядерных нейтрофилов у больных с АХГ снижалось  $(2,1 (1,3-4,6) \times 10^9/\text{л})$ , а содержание лимфоцитов увеличивалось  $(2,9 (2,2-3,5) \times 10^9/\text{л})$  относительно контрольной группы.

У больных с АХГ была выявлена прямая зависимость между абсолютным числом палочкоядренных нейтрофилов и лейкоцитов ( $r=0,66; p<0,05$ ); сегментоядерных нейтрофилов и лейкоцитов ( $r=0,87; p<0,05$ ); лимфоцитов и лейкоцитов ( $r=0,67; p<0,05$ ); сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов ( $r=0,55; p<0,05$ ); лимфоцитов и моноцитов ( $r=0,71; p<0,05$ ).

Таким образом, у больных с АХГ количество лейкоцитов в периферической крови отличается по сравнению с контролем и больными ПХГ и характеризуется повышением количества палочкоядренных нейтрофилов, базофилов, эозинофилов, моноцитов и лимфоцитов при снижении сегментоядерных нейтрофилов.

### **3.3.1. Оценка интегральных лейкоцитарных индексов**

С помощью интегральных лейкоцитарных индексов проводилась оценка степени выраженности воспалительного процесса и состояния общего гомеостаза организма. Для этого лейкоцитарные индексы были разделены на две группы: индексы, характеризующие наличие эндогенной интоксикации; индексы, отражающие функционирование клеточных факторов неспецифической реактивности (таблица 13). У больных с ПХГ индексы эндогенной интоксикации находились в пределах контрольных значений (лейкоцитарный индекс интоксикации Рейса у больных ПХГ и в контроле составил  $1,3 (0,8-1,8)$  у.е. и  $1,5$

(1,2-1,9) у.е., индекс сдвига лейкоцитов крови – 1,4 (0,9-1,9) у.е. и 1,5 (1,2-2,1) у.е., лимфоцитарный индекс – 0,7 (0,5-1,1) у.е. и 0,6 (0,4-0,8) у.е. соответственно). Кроме ядерного индекса, который статистически значимо повышался по сравнению с группой контроля (0,2 (0,1-0,4) и 0,1 (0,0-0,1) при  $p=0,017$  соответственно), что свидетельствует об омоложении популяции лейкоцитов за счет увеличения палочкоядерных нейтрофилов. Следовательно, при ПХГ явление эндогенной интоксикации не наблюдается.

У больных с АХГ все индексы интоксикации статистически значимо отличались от группы контроля и больных ПХГ. При этом лейкоцитарный индекс интоксикации Рейса и индекс сдвига лейкоцитов крови снижались (0,8 (0,6-1,2); при  $p_1=0,0054$   $p_2=0,014$ ) и 1,0 (0,7-1,4) при  $p_1=0,018$ ), а лимфоцитарный индекс и ядерный индекс повышались (1,1 (0,7-1,4) при  $p_1=0,023$ ;  $p_2=0,04$ ; 0,3 (0,2-0,5) при  $p_1=0,0001$ ;  $p_2=0,029$ ).

Таблица 13 - Значения интегральных лейкоцитарных индексов у больных *H.pylori*-ассоциированным хроническим гастритом

Индексы, у.е.	Группы обследуемых		
	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
1	2	3	4
<b>Индексы эндогенной интоксикации</b>			
Лейкоцитарный индекс интоксикации Рейса	1,5 (1,2-1,9)	1,3 (0,8-1,8)	0,8 (0,6-1,2) <b><math>P_1=0,005</math>; <math>P_2=0,014</math></b>
Индекс сдвига лейкоцитов крови	1,5 (1,2-2,1)	1,4 (0,9-1,9)	1,0 (0,7-1,4) <b><math>P_1=0,018</math></b>
Лимфоцитарный индекс	0,6 (0,4-0,8)	0,7 (0,5-1,1)	1,1 (0,7-1,4) <b><math>P_1=0,023</math>; <math>P_2=0,040</math></b>
Ядерный индекс	0,1 (0-0,1)	0,2 (0,1-0,4) <b><math>P_1=0,017</math></b>	0,3 (0,2-0,5) <b><math>P_1=0,0001</math>; <math>P_2=0,029</math></b>
<b>Индексы неспецифической реактивности</b>			
Индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов	1,5 (1,3-2,3)	1,4 (0,9-1,8)	0,9 (0,7-1,3) <b><math>P_1=0,025</math>; <math>P_2=0,003</math></b>



продолжение таблицы 13

1	2	3	4
Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов,	31,1 (10,7-141,5)	15,8 (9,5-47,6)	10,4 (6,0-17,7) <i>P<sub>1</sub>=0,027; P<sub>2</sub>=0,019</i>
Индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов,	14,0 (0-31,2)	15,8 (8,9-43,8)	11,4 (8,0-19,0)
Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов	14,5 (12,9-106,3)	16,9 (8,2-33,0)	9,9 (6,8-20,1)

Примечание: P<sub>1</sub>-достоверность различий по сравнению с группой здоровых доноров; P<sub>2</sub>-достоверность различий по сравнению с группой больных с поверхностным хроническим гастритом.

Снижение индексов: лейкоцитарного индекса интоксикации Рейса и индекса сдвига лейкоцитов крови могут быть обусловлены относительной нейтропенией на фоне относительного моноцитоза и лимфоцитоза. Повышение лимфоцитарного индекса и ядерного индекса является отражением повышения относительного содержания лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов и палочкоядерных нейтрофилов при уменьшении относительного содержания сегментоядерных нейтрофилов. Следовательно, можно предположить, что у больных с АХГ наблюдается снижение роли сегментоядерных нейтрофилов в реализации процессов эндогенной интоксикации, что также вероятно, детерминирует развитие аллергизации (реакции замедленного типа) за счет относительного повышения количества эозинофилов, базофилов и лимфоцитов.

Индексы неспецифической реактивности у больных с ПХГ также как и индексы интоксикации не имели статистически значимых различий по сравнению с группой контроля и составили: индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов – 1,4 (0,9-1,8) у.е. и 1,5 (1,3-2,3) у.е.; индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов – 15,8 (8,9-43,8) у.е. и 14,0 (0,0-31,2) у.е. и индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов – 16,9 (8,2-33,0) у.е. и 14,5 (12,9-106,3) у.е. соответственно. Кроме индекса соотношения нейтрофилов и моноцитов, значение которого достоверно снижалось по сравнению с группой контроля и составило 15,8 (9,5 -47,6) и 31,1 (10,7-141,5) у.е. при  $p=0,025$  соответственно. Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов позволяет оценить состояние макрофагальной системы. Следовательно, у больных ПХГ наблюдается снижение роли нейтрофилов и

повышение моноцитов/макрофагов в реализации альтеративно-деструктивных процессов, вызванных воспалением в ответ на *H. pylori*-инфекцию.

У больных с АХГ значения индексов соотношения нейтрофилов и лимфоцитов; и нейтрофилов и моноцитов достоверно снижались по сравнению с группой контроля и больными ПХГ (индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов – 0,9 (0,7-1,3) у.е. при  $p_1=0,025$ ;  $p_2=0,003$ ), индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов – 10,4 (6,0 – 17,7) у.е. при  $p_1=0,027$ ;  $p_2=0,019$ ). Индексы соотношения лимфоцитов и эозинофилов и соотношения лимфоцитов и моноцитов также имели тенденцию к снижению, но не были статистически значимы и составили 11,4 (8,0-19,0) у.е. и 9,9 (6,8-20,1) у.е. соответственно. Снижение индекса соотношения нейтрофилов и моноцитов у больных АХГ также как и у больных с ПХГ характеризует уменьшение значение нейтрофилов и повышение роли моноцитов/макрофагов в осуществлении воспалительных реакций.

Таким образом, изменение лейкоцитарных индексов показало степень выраженности воспаления и наличие эндогенной интоксикации. При этом у больных с АХГ изменения более выражены и характеризуются снижением неспецифической резистентности и преобладанием макрофагального иммунного ответа.

#### **3.4. Особенности фагоцитарной активности нейтрофилов при *H. pylori*-ассоциированном хроническом гастрите**

Для оценки функциональной активности нейтрофилов проводили определение их способности вступать в фагоцитоз и поглощать бактериальные клетки.

Способность нейтрофилов к выполнению фагоцитоза оценивается по показателям фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа. На рисунке 12 представлен процесс фагоцитоза нейтрофилами у больных *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом (рисунок 9).

В результате исследования было выявлено, что в фагоцитозе преимущественно участвуют сегментоядерные нейтрофилы – зрелые дифференцированные клетки. На поверхности нейтрофилов одновременно могут

быть адгезированы несколько бактериальных клеток (от 3 до 7), как одиночных, так и в виде скоплений. В процессе фагоцитоза происходит поглощение сразу нескольких объектов.

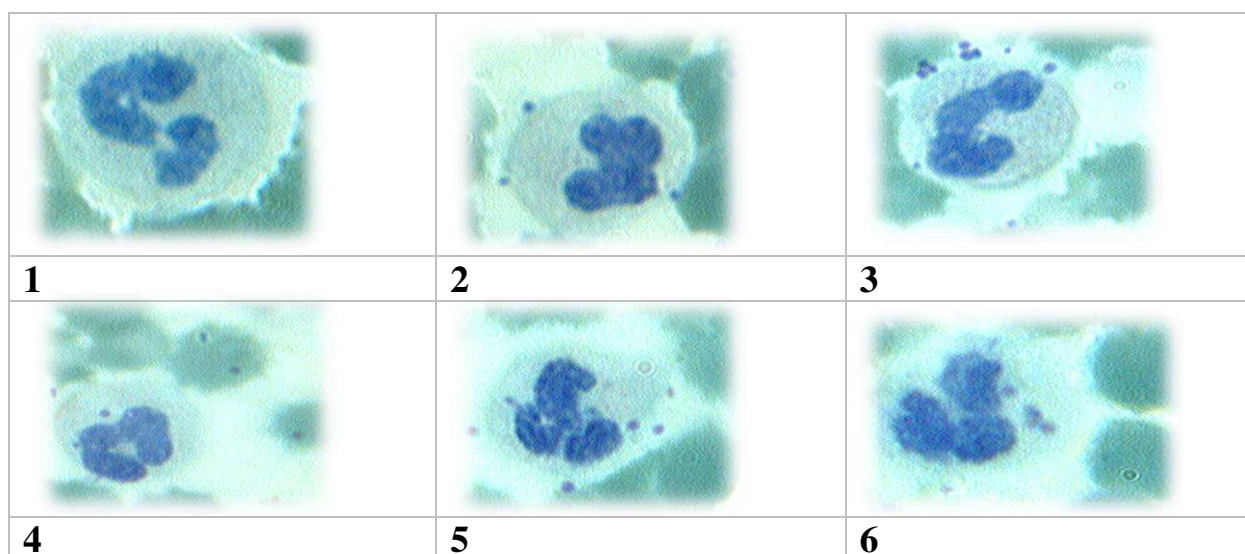


Рисунок 9 - Микрофотография, демонстрирующая фагоцитирующий нейтрофил у пациентов с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом. Фагоцитарную активность оценивали на модели с использованием *Staphylococcus aureus*: 1 – сегментоядерный нейтрофил в состоянии покоя; 2,3–адгезия бактерий на мембране нейтрофилов; 4-6 – поглощение бактерий нейтрофилом.

В результате определения фагоцитарной активности у больных с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом было выявлено, что при ПХГ и АХГ значения фагоцитарного индекса не имели статистически значимых различий по сравнению с группой контроля и составили 80,0 (70,5-83,0) %, 80,0 (67,0-85,0) % и 79,0 (52,5-88,5) % соответственно (таблица 14).

Таблица 14 - Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов у больных с поверхностным и атрофическим хроническим гастритом, ассоциированным с *H. pylori*-инфекцией

Показатели	Группы обследуемых		
	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
Фагоцитарный индекс (ФИ), %	79,0 (52,5-88,5)	80,0 (70,5-83,0)	80,0 (67,0-85,0)
Фагоцитарное число (ФЧ), абс. ед.	13,0 (10,0-20,0)	12,0 (7,0-17,0)	9,0 (8,0-15,0) <b><math>P_1=0,042</math></b>

Примечание:  $P_1$  - достоверность различий по сравнению с группой здоровых доноров

Анализ данных по определению фагоцитарного числа в исследуемых группах показал, что в группе больных с ПХГ значение данного показателя не имело достоверных отличий по сравнению с группой здоровых доноров и составило 12,0 (7,0-17,0) абс. ед. и 13,0 (10,0-20,0) абс. ед. соответственно (таблица 18). В группе пациентов с АХГ наблюдалось достоверное уменьшение значения фагоцитарного числа по сравнению с группой здоровых доноров и было равно 9,0 (8,0-15,0) абс. ед.

### **3.5. Особенности продукции цитокинов при *H. pylori*-ассоциированном хроническом гастрите**

Активация лейкоцитов сопровождается синтезом различных цитокинов. Ключевыми цитокинами при патогенных воздействиях являются про- и противовоспалительные интерлейкины, к которым относятся IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8 и IL-4, IL-10 соответственно. Продукция именно этих цитокинов регулирует пролиферацию и дифференцировку лейкоцитов и развитие иммунного ответа при *H. pylori*-инфекции.

При определении уровня IL-1 $\beta$  было выявлено, что при ПХГ и АХГ наблюдалось достоверное снижение как спонтанной, так и ФГА-индуцированной продукции данного интерлейкина, по сравнению с группой контроля (таблица 19). В группе здоровых доноров показатели ФГА-индуцированной продукции IL-1 $\beta$  статистически не отличались от показателей спонтанной продукции. У пациентов с ПХГ и АХГ в системе *in vitro* спонтанная продукция IL-1 $\beta$  была снижена, по сравнению с группой контроля (29,0 (3,8-134,2) пкг/мл; 58,7 (12,1-187,2) пкг/мл и 210,3 (131,1 – 242,4) пкг/мл, соответственно).

В группе больных с ПХГ наблюдалась прямая зависимость между спонтанной продукцией IL-1 $\beta$  и фагоцитарным числом нейтрофилов ( $r=0,52$ ;  $p<0,05$ ). Также была выявлена прямая взаимосвязь между спонтанной продукцией IL-1 $\beta$  и абсолютным количеством сегментоядерных нейтрофилов ( $r=0,84$ ;  $p<0,05$ ). Обратная связь была установлена между уровнем IL-1 $\beta$  и относительным содержанием палочкоядерных нейтрофилов ( $r=-0,54$ ;  $p<0,05$ ).

У больных АХГ наблюдалась прямая зависимость между спонтанной продукцией IL-1 $\beta$  и относительным количеством эозинофилов ( $r=0,58$ ;  $p<0,05$ ) и обратная пропорциональная зависимость между спонтанной продукцией IL-1 $\beta$  с абсолютным количеством сегментоядерных нейтрофилов ( $r=-0,51$ ;  $p<0,05$ ).

Использование митогена в культуре клеток практически не стимулировало секрецию клетками IL-1 $\beta$ , как в группе пациентов с ПХГ, так и в группе с АХГ, составляя 44,7 и 49,5 пкг/мл, соответственно.

Результаты определения степени прироста при дополнительной стимуляции митогеном показали, что в группе пациентов с ПХГ значение индекса стимуляции секреции IL-1 $\beta$  было достоверно выше значения данного показателя в группе контроля и составило 1,3 (0,8-5,1) и 1,0 (0,9-1,4) у.е., при  $p\leq 0,05$  соответственно (таблица 15).

При АХГ индекс стимуляции не имел достоверных различий относительно группы контроля и пациентов с ПХГ и был равен 1,2 (0,5-2,6) у.е. Полученные результаты свидетельствуют об имеющихся резервных возможностях клеток к продукции данного цитокина.

В зависимости от уровня продукции цитокина, исследуемые больные были разделены на три группы: 1 группа – уровень IL-1 $\beta$  составил менее 20 пкг/мл, вторая группа – от 20 до 100 пкг/мл, 3 группа – более 100 пкг/мл (таблица 16).

Уровень продукции IL-1 $\beta$  у пациентов с ПХГ в группах 1 и 2 при дополнительной стимуляции митогеном был равен - 1,3 (0,0-4,0) и 1,7 (0,7-6,2) у.е., соответственно. Данный факт свидетельствует о том, что в этих группах сохраняются резервные возможности клеток-продуцентов. В группе 3 соотношение ФГА к СП равно 0,9 (0,9-1,3) у.е., что может говорить о снижении резервных возможностей продукции интерлейкина при дополнительной индукции.

У пациентов с АХГ в группах с гипо- и гиперпродукцией IL-1 $\beta$  (группы 1 и 3) наблюдается снижение индекса стимуляции меньше 1,0 у.е.

Таблица 15 - Уровень цитокинов в супернатантах лейкоцитов у пациентов с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом

Уровень цитокинов, пкг/мл		Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
1	2	3	4	5
IL-1 $\beta$	СП	210,3 (131,1-242,4)	29,0 (3,8-134,2) <b><i>P<sub>1</sub>=0,002</i></b>	58,7 (12,1-187,2) <b><i>P<sub>1</sub>=0,007</i></b>
	ФГА	219,1 (210,3-248,4)	44,7 (10,7-207,9) <b><i>P<sub>1</sub>=0,029</i></b>	49,5 (20, 8-128,6) <b><i>P<sub>1</sub>=0,001</i></b>
	ФГА/СП	1,0 (0,9-1,4)	1,3 (0,8-5,1) <b><i>P<sub>1</sub>=0,031</i></b>	1,2 (0,5-2,6)
IL-2	СП	17,6 (8,0-69,9)	6,6 (2,1-14,4) <b><i>P<sub>1</sub>=0,018</i></b>	1,9 (0-8,1) <b><i>P<sub>1</sub>=0,0001; P<sub>2</sub>=0,008</i></b>
	ФГА	35,7 (9,8-293,7)	12,9 (2,7-39,3) <b><i>P<sub>1</sub>=0,043</i></b>	22,6 (5,7-43,4) <b><i>P<sub>1</sub>=0,048</i></b>
	ФГА/СП	2,4 (0,8-4,6)	2,8 (1,1-7,0)	3,1 (2,3-23,2)
IL-4	СП	2,0 (0,9-4,9)	1,2 (0,2-6,4)	0,5 (0-1,6) <b><i>P<sub>1</sub>=0,009</i></b>
	ФГА	3,5 (1,3-12,8)	1,9 (0,9-8,4)	0,9 (0,4-20,2)
	ФГА/СП	1,2 (0,6-1,8)	0,9 (0,1-2,8)	0,6 (0-2,5)
IL-8	СП	223,1 (34,1-248,3)	278,2 (217,6-315,1) <b><i>P<sub>1</sub>=0,009</i></b>	278,7 (251,0-310,9) <b><i>P<sub>1</sub>=0,002</i></b>
	ФГА	216,8 (89,1-264,5)	282,0 (241,9-315,7) <b><i>P<sub>1</sub>=0,019</i></b>	262,9 (248,3-310,8) <b><i>P<sub>1</sub>=0,011</i></b>
	ФГА/СП	1,0 (0,9-1,1)	0,9 (0,9-1,1)	0,9 (0,9 -1,1)
IL-10	СП	35,3 (18,9-138,6)	11,7 (11,3-45,6) <b><i>P<sub>1</sub>=0,002</i></b>	15,3 (8,8-22,7) <b><i>P<sub>1</sub>=0,0001</i></b>
	ФГА	18,9 (11,3-30,7)	22,9 (10,2-54,9)	19,1 (15,1-51,6)
	ФГА/СП	1,0 (0,2-1,0)	1,0 (0,9-3,8)	1,0 (1,0-2,4) <b><i>P<sub>1</sub>=0,014</i></b>

Примечание: P<sub>1</sub>- достоверность различий по сравнению с группой здоровых доноров; P<sub>2</sub>– достоверность различий по сравнению с группой больных поверхностным хроническим гастритом. СП-спонтанная продукция цитокинов; ФГА- фитогемагглютинин стимулированная продукция цитокинов; ФГА/СП – индекс стимуляции продукции цитокинов

На основании этого факта, а также снижения базальной продукции IL-1 $\beta$  можно сказать о низкой способности лейкоцитов к продукции цитокина. В группе 2 соотношение ФГА и СП больше 1,0 у.е., что свидетельствует об имеющихся резервных возможностях клеток-продуцентов.

Таблица 16 - Уровень IL-1 $\beta$  при хроническом гастрите, ассоциированном с *H. pylori*, в зависимости от уровня продукции цитокина

Группы обследуемых		Уровень продукции IL-1 $\beta$ , пкг/мл		
		Спонтанный	ФГА-индуцированный	Индекс стимуляции
Больные с ПХГ	1 группа	3,2 (0,0-8,9) <b><math>P_1=0,0001</math>; <math>P_2=0,0001</math></b>	10,2 (7,4-23,3) <b><math>P_1=0,003</math>; <math>P_2=0,0001</math></b>	1,3 (0,0-4,0)
	2 группа	42,0 (23,2-55,2) <b><math>P_2=0,0001</math></b>	72,6 (44,8-143,9) <b><math>P_2=0,0001</math></b>	1,7 (0,7-6,2)
	3 группа	227,2 (167,5-285,0)	219,1 (212,2-301,6)	0,9 (0,9-1,3)
Больные с АХГ	1 группа	8,9 (0,0-11,8) <b><math>P_1=0,005</math>; <math>P_2=0,0001</math></b>	16,6 (10,1-22,2) <b><math>P_2=0,0001</math></b>	0,7 (0,0-2,3)
	2 группа	58,7 (12,9-68,7) <b><math>P_2=0,0001</math></b>	54,2 (32,3-124,9) <b><math>P_2=0,005</math></b>	1,2 (0,6-9,9)
	3 группа	209,7 (185,4-220,9)	148,0 (67,7-223,3)	0,7 (0,3-1,4)

Примечание:  $P_1$  – достоверность различий по сравнению с группой №2;  $P_2$  – достоверность различий по сравнению с группой №3.

В результате определения уровня IL-2 у больных с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом было установлено, что в группе пациентов с ПХГ спонтанный уровень данного цитокина был достоверно ниже относительно группы контроля и составил 6,6 (2,1-14,4) пкг/мл и 17,6 (8,0-69,9) пкг/мл соответственно; при  $p=0,018$  (таблица 15).

При ПХГ между спонтанной продукцией IL-2 и общим количеством лейкоцитов наблюдалась прямая связь ( $r=0,61$ ;  $p<0,05$ ). Базальный уровень IL-2 находился в прямой связи с относительным количеством сегментоядерных нейтрофилов ( $r=0,67$ ;  $p<0,05$ ) и в обратной взаимосвязи с относительным количеством лимфоцитов ( $r=-0,52$ ;  $p<0,05$ ). Прямая корреляционная связь была выявлена у больных с ПХГ между спонтанной продукцией IL-2 и уровнем IL-1 $\beta$  ( $r=0,76$ ;  $p<0,05$ ). Обратная зависимость наблюдалась между относительным содержанием базофилов и уровнем IL-2 ( $r=-0,66$ ;  $p<0,05$ ) и относительным содержанием эозинофилов и концентрацией IL-2 ( $r=-0,71$ ;  $p<0,05$ ).

В группе пациентов с АХГ спонтанная продукция IL-2 также была достоверно ниже, по сравнению с группой контроля и ниже, чем в группе больных с ПХГ, и была равна 1,9 (0-8,1) пкг/мл.

У больных АХГ наблюдалась обратнопропорциональная зависимость между спонтанной продукцией ИЛ-2 и относительным количеством эозинофилов ( $r=-0,52$ ;  $p<0,05$ ) и прямая с относительным содержанием сегментоядерных нейтрофилов ( $r=0,51$ ;  $p<0,05$ ).

ФГА-индуцированная продукция ИЛ-2 была достоверно ниже в обеих группах обследования, по сравнению с группой контроля. Так, в группе с ПХГ содержание ИЛ-2 составило 12,9 (2,7-39,3) пкг/мл, в группе пациентов с АХГ - 22,6 (5,7-43,4) пкг/мл, а в контрольной группе – 35,7 (9,8-293,7) пкг/мл.

При оценке индекса стимуляции экспрессии ИЛ-2 было установлено, что в группе пациентов с ПХГ соотношение ФГА/СП было больше единицы и составило 2,8 (1,1-7,0) у.е., что свидетельствует об имеющихся резервных возможностях клеток-продуцентов.

При этом, данное значение не имело статистически значимых различий относительно группы контроля, в которой данный показатель составил 2,4 (0,8-4,6) у.е.

В группе больных с АХГ относительно индекса стимуляции (3,1 (2,3-23,2 у.е.)) также не было выявлено достоверных различий по сравнению с группой контроля. Показатель индекса стимуляции продукции ИЛ-2 у больных АХГ свидетельствует об имеющихся функциональных возможностях иммунокомпетентных клеток и способности при дополнительной стимуляции митогеном синтезировать интерлейкин.

Таким образом, несмотря на то, что как базальный, так и стимулированный уровень ИЛ-2 в группах с ПХГ и АХГ был статистически значимо ниже, чем в группе контроля, индекс стимуляции в обследуемых группах свидетельствует о резервных возможностях клеток-продуцентов.

Оценка продукции ИЛ-4 показала, что спонтанный уровень данного интерлейкина в группе больных с ПХГ не имел статистически значимых различий, по сравнению с группой здоровых доноров и составил 1,2 (0,2-6,4) пкг/мл и 2,0 (0,9-4,9) пкг/мл соответственно (таблица 15).



В группе больных с АХГ базальный уровень IL-4 был статистически значимо ниже относительно группы контроля и соответствовал 0,5 (0-1,6) пкг/мл. В результате корреляционного анализа у больных ПХГ была выявлена прямая пропорциональная зависимость между спонтанным уровнем IL-4 и IL-2 ( $r=0,87$ ;  $p<0,05$ ). Между базальным уровнем IL-4 и абсолютным содержанием сегментоядерных нейтрофилов была выявлена обратнопропорциональная зависимость ( $r=-0,57$ ;  $p<0,05$ ), а с абсолютным количеством лимфоцитов прямая связь ( $r=0,58$ ;  $p<0,05$ ).

ФГА-стимулированная продукция IL-4 в обеих обследуемых группах (АХГ и ПХГ) не имела достоверных отличий по сравнению с группой контроля. В то же время выявлено, что у больных ПХГ стимулированная продукция IL-4 имела прямую взаимосвязь со спонтанной продукцией IL-2 ( $r=0,86$ ;  $p<0,05$ ) и общим количеством лейкоцитов ( $r=0,78$ ;  $p<0,05$ ). В группе больных с АХГ была установлена корреляция между базальным уровнем продукции интерлейкинов IL-4 и IL-2 ( $r=0,69$ ;  $p<0,05$ ), а также между ФГА-индуцированной экспрессией IL-4 и спонтанной продукцией IL-2 ( $r=0,73$ ;  $p<0,05$ ).

При определении соотношения ФГА/СП было установлено, что в группе пациентов с ПХГ индекс стимуляции продукции лимфоцитами IL-4 не имеет статистически значимых различий по сравнению с группой контроля.

Индекс стимуляции в группе ПХГ равен 0,9 (0,1-2,8) у.е.. В группе больных с АХГ соотношение ФГА/СП было меньше единицы (0,6 (0-2,5) у.е.), что также статистически не отличалось от группы здоровых доноров и группы больных с ПХГ.

В результате определения уровня IL-8 было установлено, что спонтанная продукция данного цитокина как при ПХГ, так и при АХГ статистически значимо выше данного показателя в группе контроля (таблица 15).

Базальный уровень цитокина в группе пациентов с ПХГ составил 278,2 (217,6-315,1) пкг/мл, в группе с АХГ – 278,7 (251,0-310,9) пкг/мл, в контроле – 223,1 (34,1-248,3) пкг/мл. ФГА-индуцированная продукция лимфоцитами IL-8 в группе больных с ПХГ составила 282,0 (241,9-315,7) пкг/мл, АХГ- 262,9 (248,3-310,8)

пкг/мл. Значения были статистически значимо выше данного показателя в группе контроля (216,8 (89,1-264,5)) пкг/мл. Статистически значимых различий между обследуемыми группами (пациентов с ПХГ и АХГ) не выявлено.

У больных с ПХГ была выявлена прямая зависимость между относительным содержанием сегментоядерных нейтрофилов и базальной продукцией ИЛ-8 ( $r=0,52$ ;  $p<0,05$ ).

Индекс стимуляции в обследуемых группах не имел статистически значимых различий по сравнению с группой здоровых доноров.

В группе больных с ПХГ индекс стимуляции составил 0,9 (0,9-1,1) у.е., у больных с АХГ - 0,9 (0,9-1,1) у.е. и у здоровых доноров - 1,00 (0,9-1,9) у.е.. Следовательно, резервные возможности к продукции лимфоцитами ИЛ-8 сохраняются при хронической *H. pylori*-инфекции, но имеется тенденции к их снижению.

В результате определения содержания ИЛ-10 в группах больных с *H. pylori* – ассоциированными заболеваниями было установлено, что у пациентов с ПХГ спонтанная продукция данного цитокина являлась статистически значимо ниже, чем в группе контроля (11,7 (11,3-45,6) пкг/мл и 35,3 (18,9-138,6) пкг/мл; при  $p = 0,002$  соответственно) (таблица 15).

В группе пациентов с АХГ также наблюдалось достоверное уменьшение спонтанной продукции ИЛ-10, по сравнению с группой контроля (15,3 (8,8-22,7) пкг/мл). Также у больных с АХГ была установлена прямая корреляционная связь между уровнем ИЛ-10 и относительным содержанием лимфоцитов в периферической крови ( $r=0,71$ ;  $p<0,05$ ).

ФГА-индуцированная продукция цитокина не имела статистически значимых различий в группах больных с АХГ и ПХГ относительно группы здоровых доноров. Так, в группе с ПХГ стимулированная продукция составила 22,9 (10,2-54,9) пкг/мл, в группе АХГ - 19,1 (15,1-51,6) пкг/мл, в контрольной группе – 18,9 (11,3-30,7) пкг/мл.

В результате проведенного корреляционного анализа было выявлено, что у больных ПХГ между ФГА-индуцированной продукцией ИЛ-10 и ИЛ-2 существует

прямая корреляционная зависимость ( $r=0,58$ ;  $p<0,05$ ). Между спонтанным уровнем IL-10 и спонтанным уровнем IL-8 была выявлена обратно пропорциональная зависимость ( $r=-0,66$ ;  $p<0,05$ ). Обратная корреляционная зависимость была показана между спонтанным уровнем IL-10 и резервным уровнем IL-8 ( $r=-0,74$ ;  $p<0,05$ ).

Соотношение ФГА/СП в группе больных с ПХГ статистически не отличалось от данного показателя в группе контроля (1,0 (0,2-1,0) у.е.), что говорит об имеющихся резервных возможностях клеток-продуцентов (рисунок 19). В группе пациентов с АХГ значение индекса стимуляции (1,0 (1,0-2,4) у.е.) достоверно выше относительно группы контроля,  $p=0,014$ . Полученные результаты свидетельствуют об имеющихся резервных возможностях клеток-продуцентов.

### 3.5.1. Особенности соотношения про- и противовоспалительных цитокинов при *H. pylori*-ассоциированном хроническом гастрите

Для оценки соотношения цитокинов было проведен подсчет цитокиновых индексов (таблица 17).

Таблица 17 - Цитокиновые индексы у пациентов с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом

Индексы	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
IL-1 $\beta$ / IL-10	1,5 (0,5-8,2)	1,5 (0,3-5,4)	2,8 (0,8-8,8)
IL-1 $\beta$ / IL-4	2,9 (0-71,2)	17,6 (0-109,6)	8,1 (0,1-154,3)
IL-2/ IL-4	3,1 (1,3-7,7)	2,0 (0,8-7,5)	1,2 (0,6-7,0)
IL-2/ IL-10	0,6 (0-0,6)	0,2 (0-1,1)	0,1 (0-0,5) <b><math>P_1=0,017</math></b>
IL-8/ IL-4	57,7 (3,4-158,9)	177,4 (34,1 – 406,8) <b><math>P_1=0,014</math></b>	368,4 (26,6 – 493,3) <b><math>P_1=0,005</math></b>
IL-8/ IL-10	6,3 (0,3-12,6)	20,9 (4,7-27,4) <b><math>P_1=0,008</math></b>	17,9 (11,2-36,3) <b><math>P_1=0,001</math></b>

Примечание:  $P_1$ - достоверность различий по сравнению с группой здоровых доноров;

Цитокиновый индекс IL-1 $\beta$ /IL-10 при спонтанной продукции интерлейкинов в группе пациентов с ПХГ не имел статистически значимых различий по сравнению с группой контроля и составил 1,5 (0,3-5,4) и 1,5 (0,5-8,2) у.е. соответственно. В группе больных АХГ наблюдалось повышение индекса IL-1 $\beta$ /IL-10 по сравнению с контролем и достигало 2,8 (0,8-8,8) у.е.

Индекс спонтанной продукции IL-1 $\beta$ /IL-4 как в группе больных с ПХГ, так и в группе больных с АХГ был выше по сравнению с группой контроля [17,6 (0-109,6); 8,1 (0,1-154,3) и 2,9 (0-71,2) у.е. соответственно]. В группе пациентов с ПХГ соотношение цитокинов IL-1 $\beta$ /IL-4 было выше, чем в группе с АХГ.

Соотношение IL-2/IL-4 при базальном уровне продукции при ПХГ и АХГ снижалось относительно группы контроля. При этом статистически значимых различий в сравниваемых показателях выявлено не было. Так, в группе больных с ПХГ индекс IL-2/IL-4 составил 2,0 (0,8-7,5) у.е., в группе с АХГ - 1,2 (0,6-7,0) у.е. и в контроле - 3,1 (1,3-7,7) у.е..

Цитокиновый индекс IL-2/IL-10 при спонтанной продукции интерлейкинов достоверно снижался в группах больных с ПХГ и АХГ относительно группы контроля и составил 0,2 (0-1,1); 0,1 (0-0,5) и 0,6 (0-0,6) у.е. соответственно (при  $p \leq 0,05$ ).

В результате оценки соотношения интерлейкинов IL-8/IL-4 при базальном уровне продукции было выявлено, что как в группе с ПХГ, так и в группе с АХГ значение данного индекса статистически значимо выше относительно группы контроля и составляет 177,4 (34,1 – 406,8) у.е., 368,4 (26,6 – 493,3) у.е. и 57,7 (3,4-158,9) у.е. соответственно.

Цитокиновый индекс IL-8/IL-10 при спонтанной продукции интерлейкинов был статистически значимо выше в группах с ПХГ и АХГ по сравнению с группой здоровых доноров и составил 20,9 (4,7-27,4) у.е. (при  $p=0,008$ ); 17,9 (11,2-36,3) у.е. (при  $p=0,001$ ) и 6,3 (0,3-12,6) у.е. соответственно.

Таким образом, анализируя соотношение про- и противовоспалительных цитокинов можно сказать, что при *H.pylori*-ассоциированном хроническом

гастрите происходит изменение цитокиновых индексов, при этом наблюдается преобладание провоспалительных цитокинов на противовоспалительными.

### **3.6. Анализ полиморфизма генов интерлейкинов при *H.pylori*-ассоциированном хроническом гастрите**

Полиморфизм генов определяет уровень продукции интерлейкинов, который оказывает влияние на исход воспалительного процесса. В связи с тем, что при *H. pylori*-ассоциированном хроническом гастрите преобладают провоспалительные цитокины был проведен анализ полиморфизма генов IL1 $\beta$  (+3953) C/T, IL2 (-330) T/G и IL8 (-251) A/T.

#### **3.6.1. Оценка полиморфизма гена IL1 $\beta$ (+3953) C/T при *H. pylori*-ассоциированном хроническом гастрите**

У больных с ПХГ в сравнении с группой здоровых доноров была обнаружена высокая частота гомозиготного генотипа IL1 $\beta$  (+3953) C/C [56,1 % и 39,0 % соответственно;  $\chi^2=5,77$ ;  $p=0,016$ ; OR=1,99 и 95% CI: 1,09-3,64] (таблицы 20, 21). Доля гетерозигот IL1 $\beta$  (+3953) C/T и гомозигот IL1 $\beta$  (+3953) T/T при ПХГ была снижена относительно контроля (таблица 18). При этом различия были достоверными между частотой IL1 $\beta$  (+3953) C/T в группе больных ПХГ по сравнению с контролем ( $\chi^2=5,26$ ;  $p=0,021$ ; OR=0,51 и 95% CI: 0,28-0,94). Доминирующим аллелем у больных с ПХГ являлся IL1 $\beta$  (+3953) C (72,6%), при этом статистически значимых различий с группой контроля выявлено не было.

У больных с АХГ наиболее частым генотипом являлся гетерозиготный генотип IL1 $\beta$  (+3953) C/T (56,9%). Гомозиготный генотип IL1 $\beta$  (+3953) C/C статистически значимо реже встречался у больных с АХГ по сравнению с контрольной группой и составил 13,8 % ( $\chi^2=15,96$ ;  $p=0,0006$ ; OR=0,25 и 95% CI: 0,12-0,54).

Таблица 18 -Частота генотипов и аллелей гена IL-1 $\beta$  (+3953) С/Т у больных с *H.pylori* –ассоциированным хроническим гастритом

Показатели	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
Генотипы (%)			
СС	39,0	56,1 <i>P=0,016</i>	13,8 <i>P=0,0006</i>
СТ	48,8	32,9 <i>P=0,021</i>	56,9
ТТ	12,2	11,0	29,3 <i>P=0,003</i>
Аллели (%)			
С	64,6	72,6	71,6
Т	35,4	27,4	28,4

Примечание: P- достоверность различий по сравнению с группой здоровых доноров

Генотип IL1 $\beta$  (+3953) Т/Т статистически значимо чаще встречался у больных АХГ, чем в группе здоровых доноров [29,3% ( $\chi^2=8,82$ ;  $p=0,003$ ; OR=3,0 и 95% CI: 1,35-6,74] (таблица 19). Доминирующим аллелем у больных с АХГ также, как и у больных ПХГ являлся аллель IL1 $\beta$  (+3953) С (71,6%).

Таблица 19 - Значения критерия отношения шансов предрасположенности к развитию поверхностного и атрофического хронического гастритов, ассоциированных с полиморфизмом гена IL1 $\beta$  (+3953) С/Т

Генотип	Критерий сопряженности и ( $\chi^2$ )	Критерий отношения шансов (OR)	95% доверительный интервал (CI)		Уровень значимости, p
			Нижний предел	Верхний предел	
Поверхностный хронический гастрит					
СС	<b>5,77</b>	<b>1,99</b>	<b>1,09</b>	<b>3,64</b>	<b>0,016</b>
СТ	<b>5,26</b>	<b>0,51</b>	<b>0,28</b>	<b>0,94</b>	<b>0,021</b>
ТТ	0,05	0,91	0,35	2,34	0,82
Атрофический хронический гастрит					
СС	<b>15,96</b>	<b>0,25</b>	<b>0,12</b>	<b>0,54</b>	<b>0,0006</b>
СТ	1,28	1,38	0,76	2,5	0,25
ТТ	<b>8,82</b>	<b>3,0</b>	<b>1,35</b>	<b>6,74</b>	<b>0,003</b>

Примечание: жирным шрифтом выделены достоверные результаты.

На основании полиморфизма генов интерлейкинов было проведено определение уровня продукции IL-1 $\beta$ , полученные данные представлены в таблице 20.

Таблица 20 - Уровень спонтанной продукции IL-1 $\beta$  в зависимости от полиморфизма гена IL1 $\beta$  (+3953) C/T при *H. pylori* –ассоциированном хроническом гастрите

Гены	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
CC	34,0 (20,0-63,0)	55,4 (31,8-99,0) <b>P2 =0,015</b>	70,0 (39,0-90,0) <b>P1 = 0,01</b>
CT	40,0 (16,0-90,0)	110,0 (64,5-139,81) <b>P3=0,002</b>	90,0 (67,9-120,0) <b>P1 =0,02</b>
TT	16,0 (10,0-20,0)	49,45 (13,5-73,0)	65,9 (37,9-88,0) <b>P1 =0,02</b>

Примечание: P1-достоверность различий по сравнению с группой контроля

P2 – достоверность различий по сравнению с генотипом IL-1 $\beta$  (+3953) C/T;

P3- достоверность различий по сравнению с генотипом IL-1 $\beta$  (+3953) T/T

У больных с ПХГ уровень продукции IL-1 $\beta$  при генотипе IL1 $\beta$  (+3953) C/C был ниже, чем при гетерозиготном варианте IL1 $\beta$  (+3953) C/T, уровень продукции которого был наибольшим [55,4 (31,8-99,0) пкг/мл и 110,0 (64,5 - 90,0) пкг/мл соответственно,  $p=0,015$ ]. Наименьшая продукция IL1 $\beta$  наблюдалась при генотипе IL1 $\beta$  (+3953) T/T (49,45 (13,5-73,0) пкг/мл). По сравнению с группой здоровых доноров концентрация IL-1 $\beta$  при ПХГ была выше при всех полиморфных вариантах гена (таблица 20).

При АХГ, также, как и при ПХГ наиболее высокопродуцирующим генотипом оказался гетерозиготный вариант IL1 $\beta$  (+3953) C/T (90,0 (67,9-120,0) пкг/мл;  $p=0,02$ ). При гомозиготных вариантах IL1 $\beta$  (+3953) C/C и IL1 $\beta$  (+3953) T/T уровень содержания цитокина был ниже, чем при гетерозиготном варианте, но выше, чем в группе контроля (70,0 (39,0-90,0) пкг/мл;  $p= 0,01$  и 65,9 (37,9-88,0) пкг/мл; при  $p=0,02$ ).

Таким образом, на основании полученных данных можно предположить, что развитие ПХГ ассоциировано с генотипом IL1 $\beta$  (+3953) C/C, при котором уровень продукции цитокина ниже, чем при гетерозиготном варианте. В качестве протективного фактора может выступать генотип IL1 $\beta$  (+3953) C/T, при котором уровень продукции цитокина является наибольшим. Развитие АХГ ассоциировано

с гомозиготным генотипом IL1 $\beta$  (+3953) T/T, уровень продукции интерлейкина при котором ниже по сравнению с гетерозиготным вариантом. Наличие генотипа IL1 $\beta$  (+3953) C/C является благоприятным фактором в развитии АХГ.

### 3.6.2. Оценка полиморфизма гена IL2 (-330) T/G при *H. pylori*-ассоциированном хроническом гастрите

В результате оценки полиморфизма гена IL2 (-330) T/G было выявлено, что наиболее часто встречаемым генотипом у больных ПХГ был гомозиготный генотип IL2 (-330) G/G (45,2 %) (таблица 21). Распространенность этого генотипа среди обследуемых с ПХГ по сравнению с группой здоровых доноров (43,9 %) не имела статистически значимых различий.

Таблица 21 -Частота генотипов и аллелей гена IL2 (-330) T/G у больных с *H.pylori* –ассоциированным хроническим гастритом

Показатели	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
<b>Генотипы (%)</b>			
GG	43,9	45,2	33,3
GT	19,5	32,9 <i>P=0,04</i>	44,5 <i>P=0,04</i>
TT	36,6	21,9 <i>P=0,02</i>	22,2
<b>Аллели (%)</b>			
G	53,7	61,6	55,5
T	46,3	38,4	44,5

Примечание: P-достоверность различий по сравнению с группой контроля

Доля гетерозиготного генотипа IL-2 (-330) G/T составила 32,9 %, что было статистически значимо выше по сравнению с группой контроля [19,5%;  $\chi^2=4,32$ ;  $p = 0,04$ ; OR=1,97 и 95% CI: 0,99-3,95] (таблица 23). Гомозиготный генотип IL2 (-330) T/T у больных с ПХГ наблюдался в 21,9% случаев, что было статистически значимо ниже, чем в группе контроля (36,6%;  $\chi^2=5,38$ ;  $p = 0,02$ ; OR=0,48 и 95% CI: 0,25-0,94). У больных с ПХГ аллель IL2 (-330) G встречалась у пациентов чаще (61,6 %), чем аллель IL2 (-330) T (38,4 %) (таблица 21).



У больных АХГ доминирующим вариантом гена IL2 являлся гетерозиготный IL2 (-330) T/G (44,5 %), что было статистически значимо выше по сравнению с группой контроля (19,5%;  $\chi^2=4,32$ ;  $p = 0,04$ ; OR=1,97 и 95% CI: 0,99-3,95) (таблица 22). Доля гомозиготных вариантов гена IL2 была ниже по сравнению с группой здоровых доноров, но статистически значимых различий не имела и составила IL2 (-330) G/G - 33,3 %; IL-2 (-330) T/T – 22,2 % соответственно. Аллель IL2 (-330) G при АХГ встречался чаще (55,5 %), чем аллель IL-2 (-330) T (44,5 %).

Таблица 22 - Значения критерия отношения шансов предрасположенности к развитию поверхностного и атрофического хронического гастритов, ассоциированных с полиморфизмом гена IL2 (-330) T/G

Генотип	Критерий сопряженности ( $\chi^2$ )	Критерий отношения шансов (OR)	95% доверительный интервал (CI)		Уровень значимости, p
			Нижний предел	Верхний предел	
Поверхностный хронический гастрит					
GG	0,02	1,04	0,57	1,89	0,80
<b>GT</b>	<b>4,32</b>	<b>1,97</b>	<b>0,99</b>	<b>3,95</b>	<b>0,04</b>
<b>TT</b>	<b>5,38</b>	<b>0,48</b>	<b>0,25</b>	<b>0,94</b>	<b>0,02</b>
Атрофический хронический гастрит					
GG	2,54	0,63	0,34	1,16	0,10
<b>GT</b>	<b>4,32</b>	<b>1,97</b>	<b>0,99</b>	<b>3,95</b>	<b>0,04</b>
TT	0,35	0,84	0,45	1,56	0,55

Примечание: жирным шрифтом выделены достоверные результаты.

При ПХГ наиболее высокопродуцирующими вариантами гена IL2 (-330) G/T были гомозиготные варианты: IL2 (-330) G/G (89,5 (49,0-149,0) пкг/мл) и IL2 (-330) T/T (95,0 (68,3-200,5) пкг/мл). При гетерозиготном генотипе IL2 (-330) G/T наблюдалась наименьшая продукция (58,0 (27,0-110,0) пкг/мл) (таблица 23). При этом уровень продукции интерлейкина IL-2 при всех исследуемых вариантах гена был ниже по сравнению с группой контроля.

Таблица 23 - Уровень спонтанной продукции ИЛ-2 в зависимости от полиморфизма гена ИЛ2 (-330) G/T при *H. pylori* –ассоциированном хроническом гастрите

Гены	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
GG	158,0 (89,2-190,0)	89,5 (49,0-149,0) <i>P1=0,017</i>	49,0 (0,1-90,0) <i>P1=0,001; P2=0,007</i>
GT	179,0 (77,0-457,7)	58,0 (27,0-110,0) <i>P1=0,032</i>	17,8 (2,3-64,5) <i>P1=0,01; P2=0,02</i>
TT	110,0 (40,0-190,0)	95,0 (68,3-200,5)	56,0 (0,0-180,0)

Примечание: P1-достоверность различий по сравнению с группой контроля;

P2- достоверность различий по сравнению с больными поверхностным хроническим гастритом

При АХГ наиболее высокопродуцирующим генотипом оказался вариант ИЛ2 (-330) Т/Т (56,0 (0,0-180,0) пкг/мл). Наименьшая концентрация ИЛ-2 была зарегистрирована при гетерозиготном генотипе ИЛ2 (-330) G/T (17,8 (2,3-64,5) пкг/мл). При всех полиморфных вариантах гена ИЛ2 (-330) G/T уровень секреции ИЛ-2 был статистически значимо ниже по сравнению с группой здоровых доноров и больных с ПХГ (таблица 23).

Таким образом, можно предположить, что развитие ПХГ ассоциировано с полиморфным вариантом гена ИЛ2 (-330) G/T, который является низкопродуцирующим. В качестве протективного фактора может выступать генотип ИЛ2 (-330) Т/Т, при котором уровень продукции цитокина является наибольшим. Развитие АХГ также, как и при ПХГ ассоциировано с гетерозиготным вариантом ИЛ2 (-330) G/T, уровень продукции интерлейкина при котором ниже по сравнению с гомозиготными вариантами. Протективный фактор для развития АХГ выявлен не был.

### 3.6.3. Оценка полиморфизма гена ИЛ8 (-251) А/Т при *H.pylori*-ассоциированном хроническом гастрите

Доминирующим полиморфным вариантом гена ИЛ8 (-251) А/Т у больных с ПХГ являлся ИЛ8 (-251) Т/А (49,3%). Доля гомозиготных генотипов ИЛ8 (-251) Т/Т и ИЛ8 (-251) А/А составила 32,9% и 17,8% соответственно. Статистически значимых различий по сравнению с группой здоровых доноров выявлено не было (таблица 24).

Таблица 24 -Частота генотипов и аллелей гена IL8 (-251) А/Т у больных с *H.pylori* –ассоциированным хроническим гастритом

Показатели	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
Генотипы (%)			
ТТ	31,7	32,9	55,5 ( <i>P=0,0006</i> )
ТА	53,7	49,3	44,5
АА	14,6	17,8	0
Аллели (%)			
Т	58,5	57,5	77,8 ( <i>P=0,004</i> )
А	41,5	42,5	22,2 ( <i>P=0,002</i> )

Примечание: Р-достоверность различий по сравнению с группой контроля.

Наиболее часто встречаемым аллелем при ПХГ был аллель IL8 (-251) Т (57,5%).

У больных с АХГ доминирующим генотипом был гомозиготный IL8 (-251) Т/Т (55,5 %), что было статистически значимо выше по сравнению со здоровыми донорами [31,7 %;  $\chi^2=11,63$ ;  $p=0,0006$ ; OR=2,70 и 95% CI: 1,46-5,02] (таблица 25). Гетерозиготный генотип IL8 (-251) А/Т встречался в 44,5 % случаев, а гомозиготный IL8 (-251) А/А не был обнаружен ни у одного обследуемого. Доминирующим аллелем у больных с АХГ являлся аллель IL8 (-251) Т (77,8%), что было статистически значимо выше по сравнению с группой контроля и больными ПХГ.

При оценке продукции интерлейкина у больных с ПХГ наибольший уровень IL-8 наблюдался при гетерозиготном генотипе IL8 (-251) Т/А и составил 248,32 (109,0-343,0) пкг/мл, что было статистически значимо выше по сравнению с группой контроля (120,0 (98,0-211,56) пкг/мл (таблица 26).

Таблица 25 - Значения критерия отношения шансов предрасположенности к развитию поверхностного и атрофического хронического гастритов, ассоциированных с полиморфизмом гена IL8 (-251) A/T

Генотип	Критерий сопряженности ( $\chi^2$ )	Критерий отношения шансов (OR)	95% доверительный интервал (CI)		Уровень значимости, p
			Нижний предел	Верхний предел	
<b>Поверхностный хронический гастрит</b>					
ТТ	0,002	1,05	0,56	1,97	0,88
ТА	0,5	0,82	0,45	1,48	0,48
АА	0,32	1,24	0,55	2,81	0,56
<b>Атрофический хронический гастрит</b>					
<b>ТТ</b>	<b>11,63</b>	<b>2,70</b>	<b>1,46</b>	<b>5,02</b>	<b>0,0006</b>
ТА	1,61	0,7	0,38	1,26	0,2
АА	-	-	-	-	-

Примечание: жирным шрифтом выделены достоверные результаты; «-»-отсутствие генотипа.

Уровень IL-8 при ПХГ при генотипе IL8 (-251) T/T достигал 120,0 (40,0-285,34) пкг/мл, что было меньше по сравнению с группой контроля (210,0 (70,0-220,0) пкг/мл), а при генотипе IL8 (-251) A/A – выше, чем в контроле (190,0 (167,0-346,0) пкг/мл и 151,0 (67,0-245,0) пкг/мл соответственно). Ассоциации полиморфных вариантов гена с развитием ПХГ выявлено не было.

Таблица 26 - Уровень спонтанной продукции IL-8 в зависимости от полиморфизма гена IL8 (-251) T/A при *H. pylori* –ассоциированном хроническом гастрите

Гены	Здоровые доноры	Больные с ПХГ	Больные с АХГ
ТА	120,0 (98,0-211,65)	248,32 (109,0-343,0) <b>P=0,014</b>	263,0 (237,9-277,7) <b>P= 0,008</b>
ТТ	210,0 (70,0-220,0)	120,0 (40,0-285,34)	262,0 (216,7-292,8) <b>P= 0,04</b>
АА	151,02 (67,0-245,0)	190,0 (167,0-346,0)	-

Примечание: P-достоверность различий по сравнению с группой контроля; «-» - отсутствие генотипа.

У пациентов с АХГ продукция IL-8 как при генотипе IL8 (-251) T/A (263,0 (237,9-277,7) пкг/мл), так и при генотипе IL8 (-251) T/T (262,0 (216,7-292,8) пкг/мл) была статистически значимо выше по сравнению с группой здоровых доноров. Согласно, критерию отношения шансов развитие АХГ ассоциировано с генотипом IL8 (-251) T/T.

### 3.7. Системный анализ показателей, характеризующих состояние иммунного ответа у пациентов с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом

Полученные иммунологические данные были обработаны методом факторного анализа, в результате которого были установлены факторы, лежащие в основе развития *H.pylori*-ассоциированных ПХГ и АХГ (таблица 27).

Таблица 27 - Факторный анализ показателей, характеризующих состояние системного иммунитета у больных *H. pylori* -ассоциированным хроническим гастритом

Группы	Фактор 1		Фактор 2		Фактор 3		Фактор 4	
	Показатель	ФН	Показатель	ФН	Показатель	ФН	Показатель	ФН
Больные ПХГ	IL-2; IL-4	0,91; 0,85	IL-8	0,93	IL-10	0,84	ФЧ	0,93
Больные АХГ	IL-8	0,90	IL-4	0,92	IL-1 $\beta$	0,79	ФЧ	0,83

Примечание: ФН-факторная нагрузка, ФЧ-фагоцитарное число.

В группе больных с ПХГ первым фактором, оказывающим влияние на развитие данного заболевания является дисрегуляция продукции IL-2 и IL-4, направляющих дифференцировку клеток по клеточному и гуморальному типу иммунного ответа. Вероятно, поляризация иммунного ответа по Th1-типу приводит к неэффективности элиминации внеклеточного патогена и хронизации воспалительного процесса.

Второй фактор, способствующий прогрессированию хронического воспаления при ПХГ является гиперпродукция IL-8. Данный фактор выделен отдельно, вероятно в связи с тем, что его основное значение заключается в активации нейтрофилов, а, следовательно, инфильтрации СОЖ, фагоцитозе и

продукции активных форм кислорода. Однако, данный фактор не является протективным, так как гиперпродукция IL-8 приводит к истощению клеток-продуцентов и опосредовано повреждению собственных клеток организма. Поэтому нарушения, связанные с продукцией данного цитокина, вероятно, приводят к хронизации воспалительного процесса.

Также в отдельный фактор был выделен уровень продукции IL-10. Этот интерлейкин выступает в качестве антогониста IL-2, снижает активность макрофагов и пролиферацию Т-клеток, способствуя запуску противовоспалительных процессов. У больных с ПХГ выявлена низкая продукция данного цитокина, что вероятно, обусловлено дизрегуляцией противовоспалительных процессов. Нарушение продукции данного цитокина также вносит вклад в развитие хронического воспаления при *H.pylori*-инфекции.

Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов также имеет значение в патогенезе поверхностного хронического гастрита, о чем свидетельствует выделенный четвертый фактор. Возможно, это связано с тем, что нарушение фагоцитарной функции нейтрофилов будет снижать развитие функционирования Т-лимфоцитов и формирование специфического иммунного ответа против инфекции.

Несмотря на то, что в группе пациентов с АХГ были выделены схожие факторы, влияющие на развитие заболевания, но их последовательность отличалась. Так, в патогенезе атрофического гастрита особая роль связана с продукцией IL-8. Не менее важным фактором является изменение продукции IL-4, активирующего гуморальный иммунный ответ. Третий фактор – продукция IL-1 $\beta$  – это основной воспалительный цитокин и от уровня его продукции зависит течение патологического процесса. Также как и в группе больных с ПХГ у пациентов с АХГ четвертым фактором является фагоцитарное число нейтрофилов, что свидетельствует о значимости данного фактора в развитии патологических изменений в обеих обследуемых группах.

Таким образом, на формирование *H.pylori*-ассоциированных ПХГ и АХГ оказывают влияние 4 основных фактора: уровень продукции IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-

10, IL-8 и фагоцитарное число. Вероятно, данные факторы могут являться маркерами нарушений в системном иммунном ответе при *H.pylori*-инфекции.

Для того, чтобы выявить наиболее значимые признаки *H.pylori*-ассоциированного воспаления был проведен пошаговый дискриминантный анализ при заданной величине критерия включения в уравнение  $F=1$ . Его применение позволило выявить наиболее значимые функциональные показатели в определении прогноза развития поверхностного и атрофического хронического гастрита, ассоциированных с *H.pylori*-инфекцией (таблица 28).

Таблица 28 - Результаты дискриминантного анализа некоторых показателей, характеризующих состояние системного иммунитета у больных *H. pylori* - ассоциированным поверхностным хроническим гастритом

Показатели	Критерии линейной дискриминационной функции			
	Лямбда Уилкса	Частная лямбда	Достоверность	Корень 1
IL-2 (пкг/мл)	0,63	0,96	0,09	-0,42
Лимфоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )	0,65	0,92	<b>0,02</b>	-0,53
Сегментоядерные нейтрофилы ( $\times 10^9/\text{л}$ )	0,61	0,99	0,94	-0,02
Эозинофилы ( $\times 10^9/\text{л}$ )	0,63	0,96	0,13	-0,54
Лимфоциты (%)	0,65	0,93	<b>0,03</b>	<b>-1,60</b>
Сегментоядерные нейтрофилы (%)	0,65	0,92	<b>0,02</b>	<b>-2,48</b>
Моноциты (%)	0,63	0,95	0,08	-0,94

Примечание: полужирным шрифтом выделены достоверные значения показателей.

В результате анализа выявлены дискриминирующие показатели, характеризующие состояние системного иммунитета у больных с *H.pylori*-ассоциированным поверхностным хроническим гастритом в отличие от группы здоровых доноров. К наиболее значимым признакам для развития ПХГ относятся: относительное содержание сегментоядерных нейтрофилов, относительное и абсолютное количество лимфоцитов в периферической крови.

При проведении дискриминантного анализа в группе больных с АХГ были выделены признаки, позволяющие отличить их от группы здоровых пациентов (таблица 29).

Таблица 29 - Результаты дискриминантного анализа некоторых показателей, характеризующих состояние системного иммунитета у больных *H. pylori* - ассоциированным атрофическим хроническим гастритом

Показатели	Критерии линейной дискриминационной функции			
	Лямбда Уилкса	Частная лямбда	Достоверность	Корень 1
IL-2 (пкг/мл)	0,35	0,89	<b>0,01</b>	<b>-0,75</b>
IL-4 (пкг/мл)	0,31	0,99	0,82	0,07
IL-10 (пкг/мл)	0,32	0,97	0,29	-0,19
Фагоцитарный индекс	0,32	0,97	0,24	0,23
Фагоцитарное число	0,37	0,84	<b>0,002</b>	-0,54
Сегментоядерные нейтрофилы ( $\times 10^9/\text{л}$ )	0,373	0,84	<b>0,003</b>	<b>0,79</b>
Палочкоядерные нейтрофилы ( $\times 10^9/\text{л}$ )	0,35	0,88	<b>0,01</b>	<b>-0,76</b>
Лимфоциты (%)	0,35	0,89	<b>0,01</b>	<b>-1,30</b>
Сегментоядерные нейтрофилы (%)	0,38	0,81	<b>0,001</b>	<b>-2,16</b>
Базофилы (%)	0,32	0,98	0,31	0,23

Примечание: полужирным шрифтом выделены достоверные значения показателей, СП-спонтанная продукция интерлейкина, ФГА-фитогемагглютинин-индуцированная продукция интерлейкина.

К ним относятся относительное и абсолютное количество сегментоядерных нейтрофилов, относительное количество лимфоцитов, а также абсолютное количество палочкоядерных нейтрофилов. Однако, количественные показатели изменений лейкоцитарной формулы являются достаточно переменными факторами, поэтому необходимо большее внимание уделить таким показателям, как изменение фагоцитарного числа и спонтанной продукции IL-2.

В результате дискриминантного анализа были выявлены клинико-лабораторные показатели, на основании которых возможна дифференцировка между ПХГ и АХГ (таблица 30). К таким показателям относятся количество сегментоядерных нейтрофилов, уровень IL-2 и фагоцитарное число.



Таблица 30 - Результаты дискриминантного анализа некоторых показателей, характеризующих состояние системного иммунитета у больных *H. pylori* - ассоциированным поверхностным и атрофическим хроническим гастритом

Показатели	Критерии линейной дискриминационной функции			
	Лямбда Уилкса	Частная лямбда	Достоверность	Корень 1
IL-1 $\beta$ (пкг/мл)	0,51	0,96	0,15	-0,35
IL-2 (пкг/мл)	0,61	0,80	<b>0,00</b>	<b>1,10</b>
IL-8 (пкг/мл)	0,51	0,95	0,11	-0,36
Фагоцитарный индекс	0,52	0,94	0,06	-0,42
Фагоцитарное число	0,53	0,92	<b>0,03</b>	0,53
Сегментоядерные нейтрофилы ( $\times 10^9$ /л)	0,60	0,82	<b>0,00</b>	<b>-0,84</b>
Палочкоядерные нейтрофилы ( $\times 10^9$ /л)	0,52	0,94	0,06	0,53
Сегментоядерные нейтрофилы (%)	0,53	0,92	<b>0,03</b>	0,56
Эозинофилы (%)	0,51	0,97	0,19	-0,31
Базофилы (%)	0,50	0,98	0,27	-0,33

Примечание: полужирным шрифтом выделены достоверные значения показателей, СП-спонтанная продукция интерлейкина, ФГА-фитогемагглютинин-индуцированная продукция интерлейкина

Таким образом, в группе больных АХГ появляется больше признаков, характеризующих данное заболевание по сравнению с больными ПХГ. Данный факт является обоснованным, так как атрофический хронический гастрит это морфологически отличная форма хронического гастрита, чем поверхностный, в развитие которой вовлечено больше факторов.

### Заключение

В результате полученных фактических данных были установлены количественные и функциональные особенности лейкоцитов при *H.pylori* - ассоциированном хроническом гастрите.

Анализ количественного содержания лейкоцитов позволил выявить различия в лейкоцитарной формуле между больными поверхностным и атрофическим хроническим гастритом. При АХГ было показано достоверное увеличение абсолютного количества базофилов, эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов, а также относительное снижение сегментоядерных нейтрофилов. Определение лейкоцитарных индексов позволило выявить у больных АХГ снижение роли сегментоядерных нейтрофилов в реализации воспалительных процессов и повышение значения макрофагального и лимфоцитарного звена. У больных с ПХГ не были выявлены статистически значимые изменения количественного содержания лейкоцитов и интегральных индексов. Выявленные различия свидетельствуют о более значительных изменениях, происходящих в организме больных АХГ по сравнению с ПХГ, которые отражаются в картине крови и могут быть использованы для прогноза патологического процесса.

Особенности фагоцитарной активности позволили выявить снижение функциональной активности нейтрофилов при АХГ, что может являться фактором хронизации заболевания.

Исследование цитокин-продуцирующей способности лимфоцитов позволило увидеть характер секреции основных иммунорегуляторных цитокинов, а также резервные возможности клеток-продуцентов. Спонтанный уровень IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-10 был снижен в обеих обследуемых группах, а уровень IL-8 повышен. При этом резервные возможности к продукции данных цитокинов были достоверно выше в группе больных ПХГ, чем с АХГ. Оценка соотношения про- и противовоспалительных цитокинов показала, что как при ПХГ, так и при АХГ наблюдается преобладание провоспалительных реакций, доказательством которых являются преобладание продукции IL-1 $\beta$ , IL-2 и IL-8.

В результате проведения системного анализа иммунологических показателей было выявлено, что в патогенезе ПХГ и АХГ особое влияние оказывают такие факторы как, уровень продукции IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10 и фагоцитарное число. Вероятно, данные факторы могут являться маркерами нарушений в системном иммунном ответе при *H.pylori*-инфекции. Наиболее значимыми признаками, на основе которых возможно разграничение ПХГ и АХГ являются продукция IL-2, IL-4, а также подавление фагоцитарной активности нейтрофилов.

При анализе полиморфизма генов интерлейкинов были выявлены наиболее распространенные генотипы. У больных ПХГ по сравнению с группой здоровых доноров чаще других встречались генотипы IL-1 $\beta$  (+3953) C/C; IL-2 (-330) G/G и IL-8 (-250) T/A. При АХГ наиболее распространенными генотипами были IL-1 $\beta$  (+3953) C/T; IL-2 (-330) G/T и IL-8 (-250) T/T. Встречаемость аллелей генов в обеих обследуемых группах была сходной [IL-1 $\beta$  (+3953) C; IL-2 (-330) G и IL-8 (-250) T].

Также были установлены высоко и низкопродуцирующие генотипы интерлейкинов. Как при ПХГ, так и при АХГ наибольшая продукция интерлейкинов IL-1 $\beta$ , IL-2 и IL-8 наблюдалась при генотипах IL-1 $\beta$  (+3953) C/T; IL-2 (-330) T/T и IL-8 (-250) T/A.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наиболее распространенным заболеванием желудочно-кишечного тракта является хронический гастрит [33, 53, 164]. Хронический гастрит (ХГ) – это длительно текущее рецидивирующее воспалительное поражение слизистой оболочки желудка, протекающее с ее структурной перестройкой и нарушением функции желудка. ХГ характеризуется разнообразными клиническими проявлениями, а также может протекать бессимптомно [141].

Одно из первых мест в этиологии ХГ отводится бактерии *H. pylori* [21, 31, 51, 81, 93, 137, 163; 208, 268, 275, 280]. Заражение *H. pylori* вызывает острый гастрит антрального отдела желудка, который может переходить в хроническую стадию, а затем - в атрофический гастрит [21, 36, 92]. Кроме того, *H. pylori* – ассоциированный атрофический гастрит рассматривается в качестве первой ступени каскада изменений слизистой оболочки желудка, приводящей к раку (каскад Корреа) [181, 204, 246, 267].

В основу современной действующей классификации ХГ положен принцип сочетания в диагнозе этиологических, топографических и гистологических характеристик [15, 103, 185, 198, 259, 262]. При этом, не учитывается функциональное состояние иммунной системы, которое является одним из ключевых факторов в защите от бактериальной инфекции. В связи с чем, патогенез ХГ необходимо рассматривать с позиций нарушения в иммунном ответе, при этом, уделив особое внимание патогенезу как поверхностного, так и атрофического гастрита. Изучение механизмов, обуславливающих функционирование иммунокомпетентных клеток в условиях атрофического хронического гастрита позволит разработать диагностику раннего выявления и профилактики рака желудка.

Хроническое воспаление, вызванное иммунным ответом против *H. pylori* характеризуется изменениями количественного содержания и функционального состояния лейкоцитов, что проявляется в снижении фагоцитарной активности

нейтрофилов и цитокин-продуцирующей способности мононуклеаров крови. Вероятно, эти изменения могут быть использованы для характеристики поверхностного и атрофического гастритов. Общая схема процессов, развивающихся при *H. pylori*-ассоциированном хроническом гастрите представлена на рисунке 10.

При инфицировании организма *H. pylori* происходит взаимодействие антигенов бактерии с Toll-подобными рецепторами эпителиоцитов СОЖ. В результате активации эпителиоциты продуцируют IL-8, который является хемоаттрактантом для нейтрофилов и моноцитов периферической крови. Под действием цитокина клетки активируются и мигрируют в очаг проникновения патогена. Кроме того, *H. pylori* способен непосредственно привлекать в СОЖ нейтрофилы, продуцируя NAP-белок [47, 83, 92].

Мигрируя в СОЖ, нейтрофилы фагоцитируют бактерии, что сопровождается продукцией активных форм кислорода и синтезом провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ), которые привлекают Т- и В-лимфоциты, базофилы, эозинофилы и моноциты из системного кровотока, тем самым индуцируя развитие активной воспалительной реакции [69, 106, 110, 133].

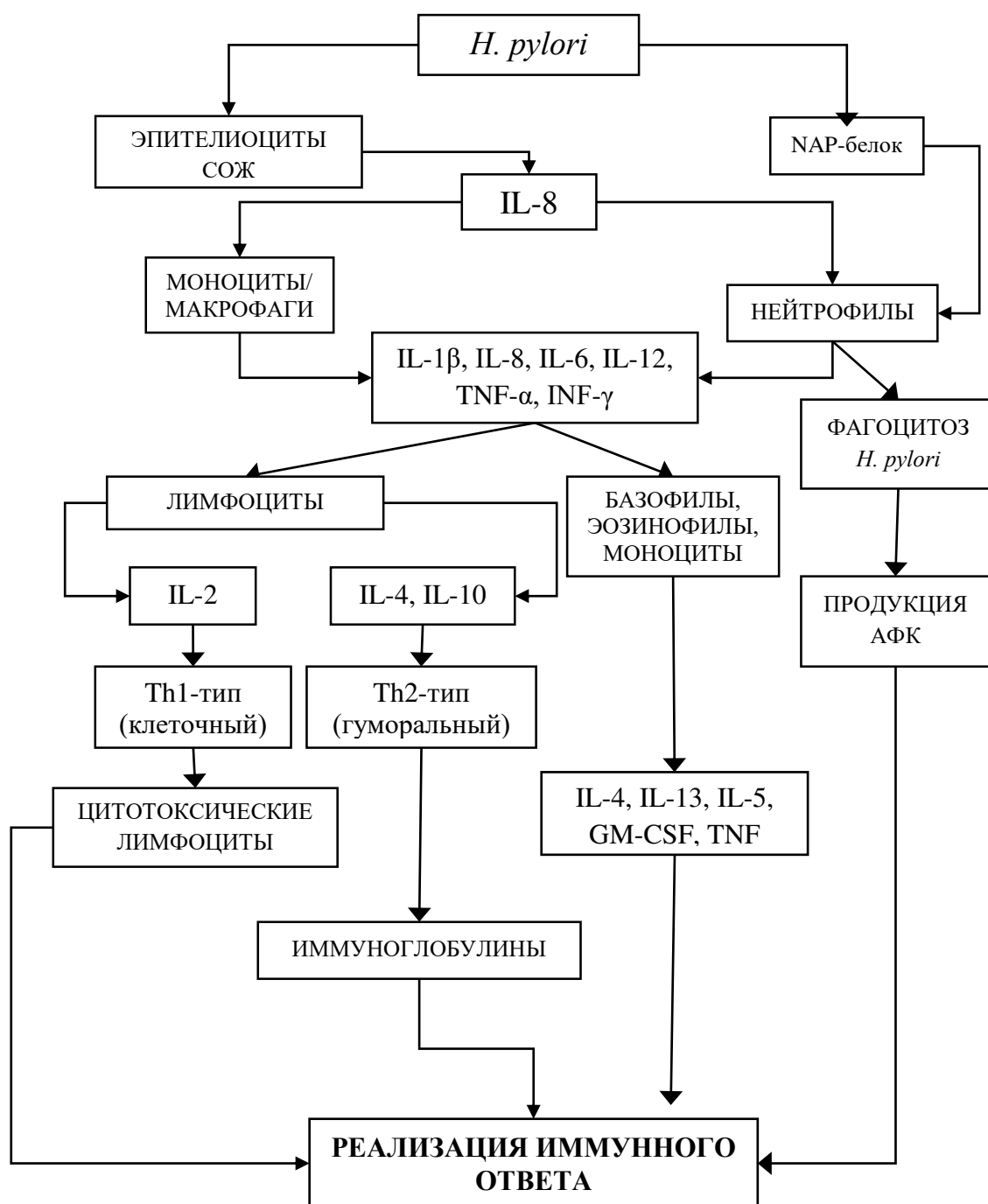


Рисунок 10 - Активация иммунной системы при первичном инфицировании *H. pylori*

(по данным Зака М.Ю. [47]; Козловой Н.Н. [69]; Ливзан М.А. [83]; Маева И.В. [92]; Нестеровой И.В. [106]; Останина А.А. [110]; Серебrenниковой С.Н. [133])

Моноциты, инфильтрирующие слизистую желудка, дифференцируются в макрофаги и под воздействием антигенных стимулов экспрессируют цитокины. Спектр продуцируемых активированными клетками цитокинов приводит к привлечению Т- лимфоцитов преимущественно Th1-типа, детерминирующего клеточный иммунный ответ [69]. Кроме того, в слизистой оболочке желудка обнаружены специфические к антигенам *H. pylori* иммуноглобулины классов IgA и IgG [20, 56, 76, 130, 138].

Несмотря на активацию иммунной системы в ответ на первичное инфицирование *H. pylori*, ее полного уничтожения не происходит, что обусловлено наличием факторов патогенности бактерии, с помощью которых она способна регулировать иммунный ответ. Кроме того, эффективность защитной реакции также зависит от генетически запрограммированных особенностей макроорганизма. В результате развивается иммуносупрессия иммунного ответа, что способствует длительной персистенции инфектогена в организме.

Длительная стимуляция антигенами *H. pylori* организма приводит к ряду патологических процессов, которые связаны с нарушением функционирования клеток иммунной системы, проявляющиеся на системном уровне. Наблюдается угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов, что способствует персистенции бактерии в организме и приводит к истощению нейтрофилов (рисунок 11). Следовательно, происходит срыв неспецифической реактивности.

Воздействие *H. pylori* на лимфоциты приводит к снижению их цитокин-продуцирующей способности, которое сопровождается дисрегуляцией процессов пролиферации и дифференцировки лимфоцитов и реализации специфического иммунного ответа. Одним из влияний *H. pylori* на иммунокомпетентные клетки является активация моноцитарно-макрофагального звена, которое способствует развитию реакции гиперчувствительности замедленного типа.

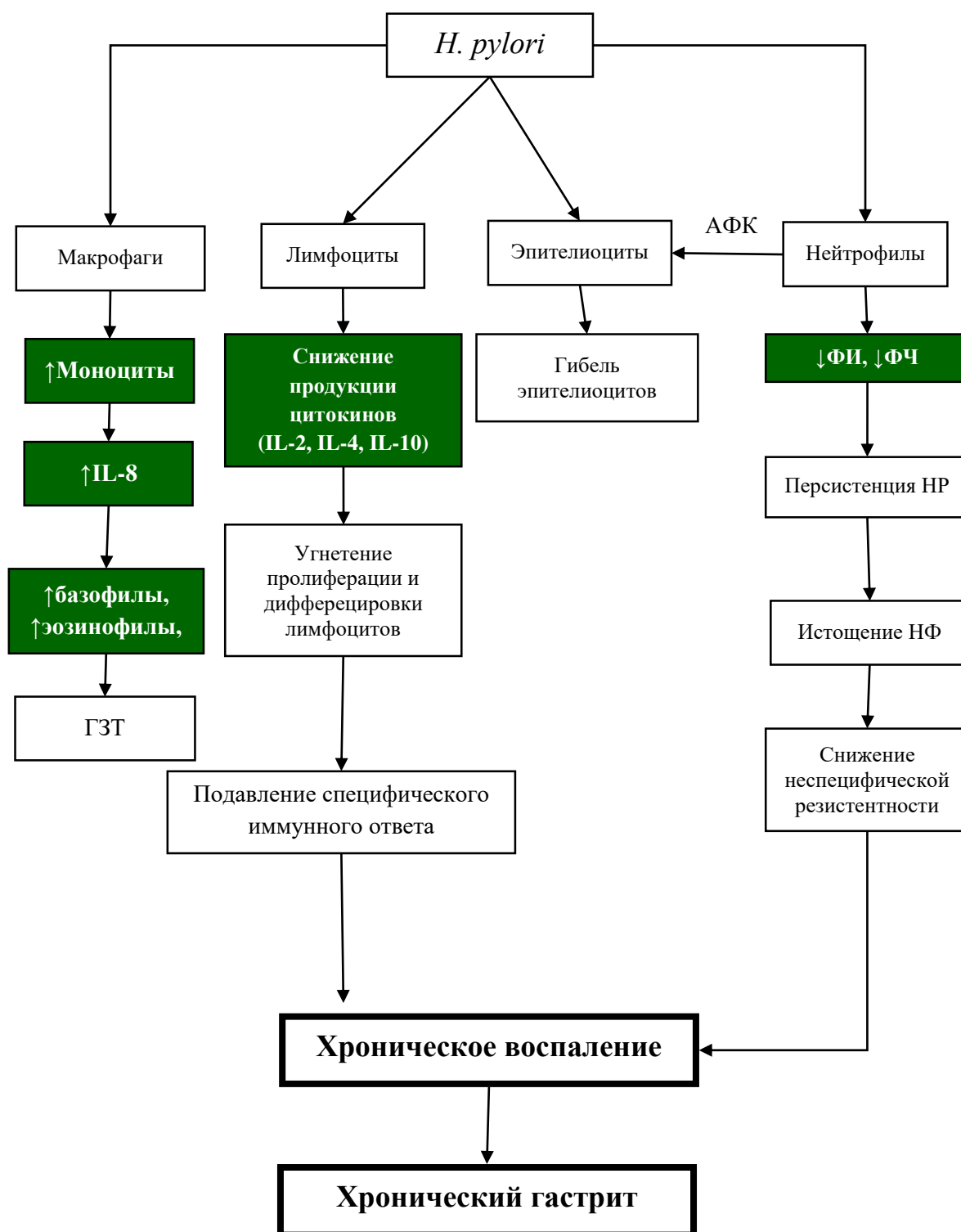


Рисунок 11 - Механизмы супрессии иммунного ответа организма при *H. pylori*-инфекции (по результатам собственных исследований и по данным Бабак О.Я. [17]; Гуреева А.Н. [37]; Некрасова А.В. [105]; Шкитина В.А. [154]; Chen Y. [180]; Пара А. [249]).  
Примечание: цветом выделены результаты собственного исследования



Факторы патогенности *H. pylori* и продукция активных форм кислорода вызывают гибель эпителиоцитов СОЖ, что вначале способствует развитию гиперпластических процессов, а затем атрофии слизистой [17, 37, 105, 154, 180, 249].

Формируемые под воздействием *H. pylori* иммунологические нарушения характеризуются особенностями при поверхностном и атрофическом хроническом гастрите (рисунок 12 и 13).

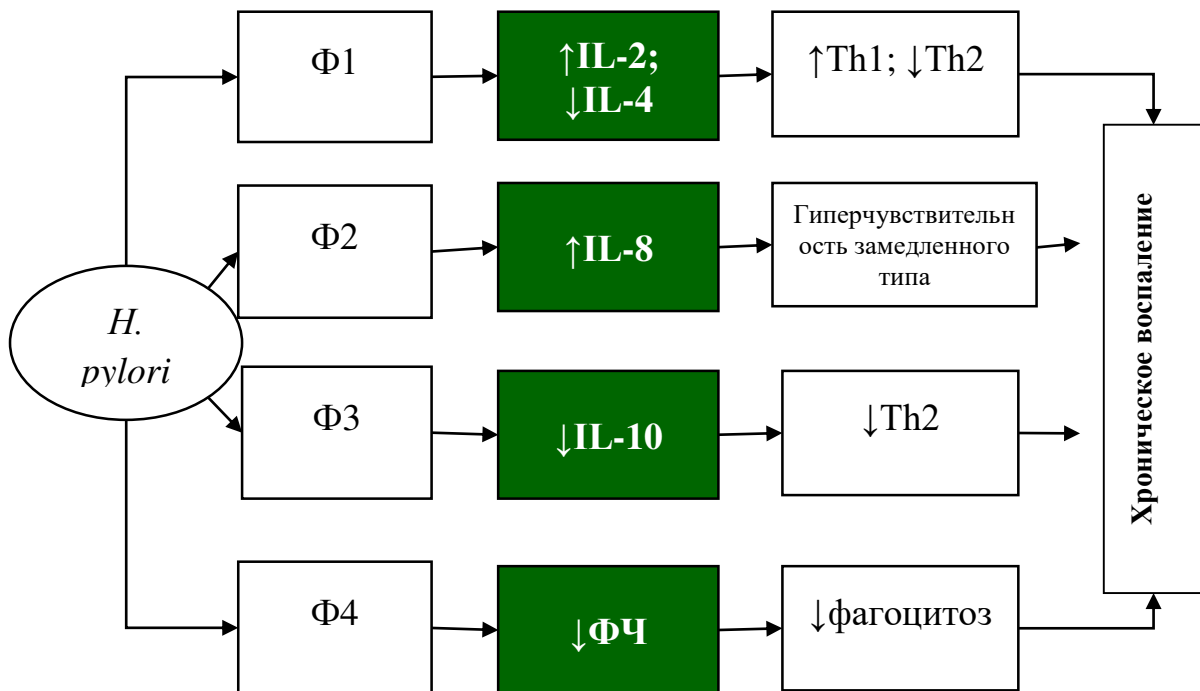


Рисунок 12 - Факторы, приводящие к развитию *H. pylori*-ассоциированного поверхностного хронического гастрита

Примечание: цветом выделены результаты собственных исследований

На основании проведенных исследований были выявлены иммунологические факторы, характеризующие течение хронического воспаления при поверхностном и атрофическом гастрите. При ПХГ было выделено 4 фактора: фактор дифференцировки иммунного ответа (Ф1); фактор активации неспецифической резистентности (Ф2); фактор супрессии иммунного ответа (Ф3) и фактор фагоцитарной активности (Ф4) (рисунок 22). Ведущим фактором в

развитии ПХГ является дисрегуляция продукции IL-2 и IL-4, которые детерминируют развитие иммунного ответа по Th1/Th2 – пути. При этом уровень обоих цитокинов оказался сниженным, что свидетельствует о подавлении *H. pylori* цитокин-продуцирующей способности лимфоцитов. Однако, концентрация IL-2 преобладала над продукцией IL-4, что говорит о поляризации иммунного ответа по Th1-пути, тем самым активируется клеточное звено иммунного ответа. Однако, данный вариант защиты является неэффективным, во-первых, по причине недостаточной активации цитотоксических лимфоцитов в результате сниженной секреции IL-2. Во-вторых, цитотоксические лимфоциты способны уничтожать только внутриклеточных патогенов, а *H. pylori* является внеклеточным. Следовательно, эффективного уничтожения возбудителя с помощью лимфоцитов-киллеров не происходит, что обуславливает его персистенцию и хронизацию воспаления.

Также хроническое воспаление при ПХГ характеризуется гиперпродукцией IL-8, которое приводит к активации базофилов, эозинофилов и моноцитов крови (рисунок 22). Повышение количества данных клеток способствует развитию гиперчувствительности замедленного типа.

В основе формирования хронического воспаления лежит нарушение механизмов супрессирования иммунного ответа [121]. Можно предположить, что одним из механизмов супрессии иммунного ответа на основании полученных результатов является снижение продукции противовоспалительного цитокина IL-10 и провоспалительного - IL-1 $\beta$ . Недостаточное количество IL-1 $\beta$  не приводит к продукции определенного уровня IL-10, что может привести к незавершенности иммунопатологического процесса.

Вклад в хронизацию воспалительной реакции также вносит снижение фагоцитарной активности, которое проявляется в подавлении фагоцитоза. Вероятно, несостоятельность неспецифической резистентности, целенаправленное ее подавление приводит к развитию патологического процесса.

При АХГ также было выделено 4 фактора, детерминирующих развитие заболевания: фактор активации неспецифической резистентности (Ф1); фактор

активации гуморального звена иммунного ответа ( $\Phi 2$ ); фактор запуска воспалительной реакции ( $\Phi 3$ ) и фактор фагоцитарной активности ( $\Phi 4$ ) (рисунок 16).

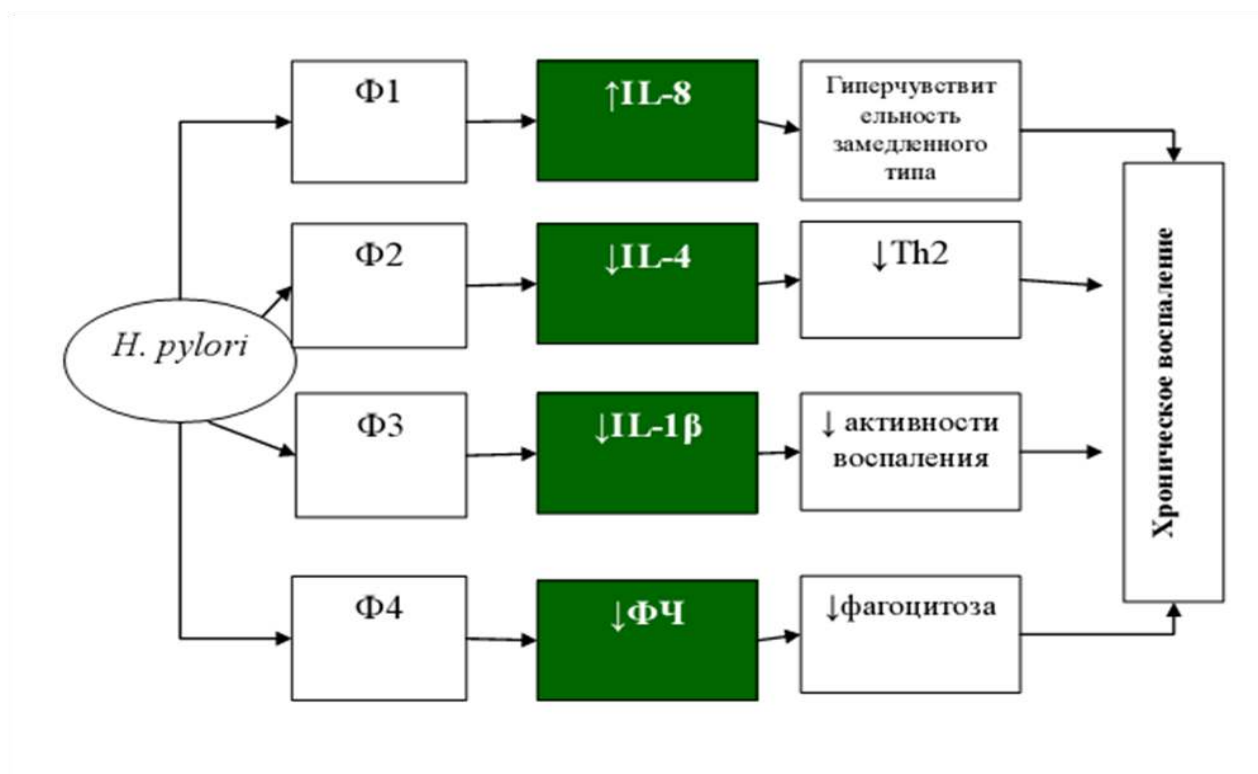


Рисунок 13 - Факторы, приводящие к развитию *H. pylori*-ассоциированного атрофического хронического гастрита

Примечание: цветом выделены результаты собственных исследований

Ключевым фактором, запускающим развитие атрофического хронического гастрита, является гиперпродукция IL-8 мононуклеарами. Это приводит к активации базофилов, эозинофилов и моноцитов крови, что лежит в основе гиперчувствительности замедленного типа, способствует инфильтрации СОЖ лейкоцитами и поддержанию воспалительной реакции, сопровождающейся активацией клеток неспецифической резистентности и продукции ими агрессивных факторов, способствующих формированию атрофии.

Для эффективной эрадикации *H. pylori* со стороны иммунной системы организма должен быть активирован преимущественно гуморальный иммунный ответ, регулируемый IL-4, направленный на уничтожение внеклеточного патогена. Однако, в условиях *H. pylori*-инфицирования происходит супрессия продукции

интерлейкинов лимфоцитами, что препятствует их пролиферации и дифференцировке по Th2-пути. При этом развивается длительная персистенция патогена и хронизация воспаления.

Также в развитии хронического воспаления при АХГ лежит низкая продукция интерлейкина IL-1 $\beta$ , что может быть обусловлено несколькими причинами. Во-первых, влиянием факторов патогенности *H. pylori* на функционирование лимфоцитов и запуск их апоптоза. Во-вторых, гиперактивация продукции интерлейкинов с последующим их истощением. Более того, снижение продукции IL-1 $\beta$  также способствует снижению фагоцитарной активности нейтрофилов, что играет определенную роль в реализации патологического процесса при АХГ.

#### **4.1. Характеристика количественного содержания лейкоцитов при *H. pylori*-ассоциированном хроническом гастрите**

В ответ на колонизацию *H. pylori* количество лейкоцитов в слизистой оболочке желудка увеличивается, развивается местная воспалительная реакция [47, 92]. При этом на первой стадии воспаления в очаг проникновения инфектогена мигрируют нейтрофилы и моноциты/макрофаги, позже туда проникают лимфоциты, что обусловлено их хемотаксической чувствительностью и спектром продуцируемых цитокинов [47]. Изменение количественного содержания лейкоцитов в периферической крови при остром воспалении сопровождается их повышением, что является нормальной физиологической реакцией на проникновение инфекционного агента, свидетельствующее об активации иммунной системы. При хроническом воспалении, вызванном персистирующей бактериальной инфекцией, наблюдается снижение количества лейкоцитов [121].

В данном исследовании повышения общего количества лейкоцитов в системном кровотоке не выявлено, что было продемонстрировано на больных с поверхностным и атрофическим гастритами. Сходные данные были получены в работах В.Д. Прокопенко [122] и О.Н. Павлова [113]. Вероятно, это может быть

обусловлено тем, что *H. pylori* обладает относительно низкой иммуногенностью и обуславливает длительное взаимодействие микроорганизма с иммунной системой слизистой оболочки желудка, что приводит к персистенции инфекции, которое не отражается на изменении картины крови [72].

Несмотря на отсутствие изменений в общем содержании лейкоцитов периферической крови у больных с *H. pylori*-инфекцией, при анализе лейкоцитарной формулы наблюдалось перераспределение отдельных популяций клеток (рисунок 14).

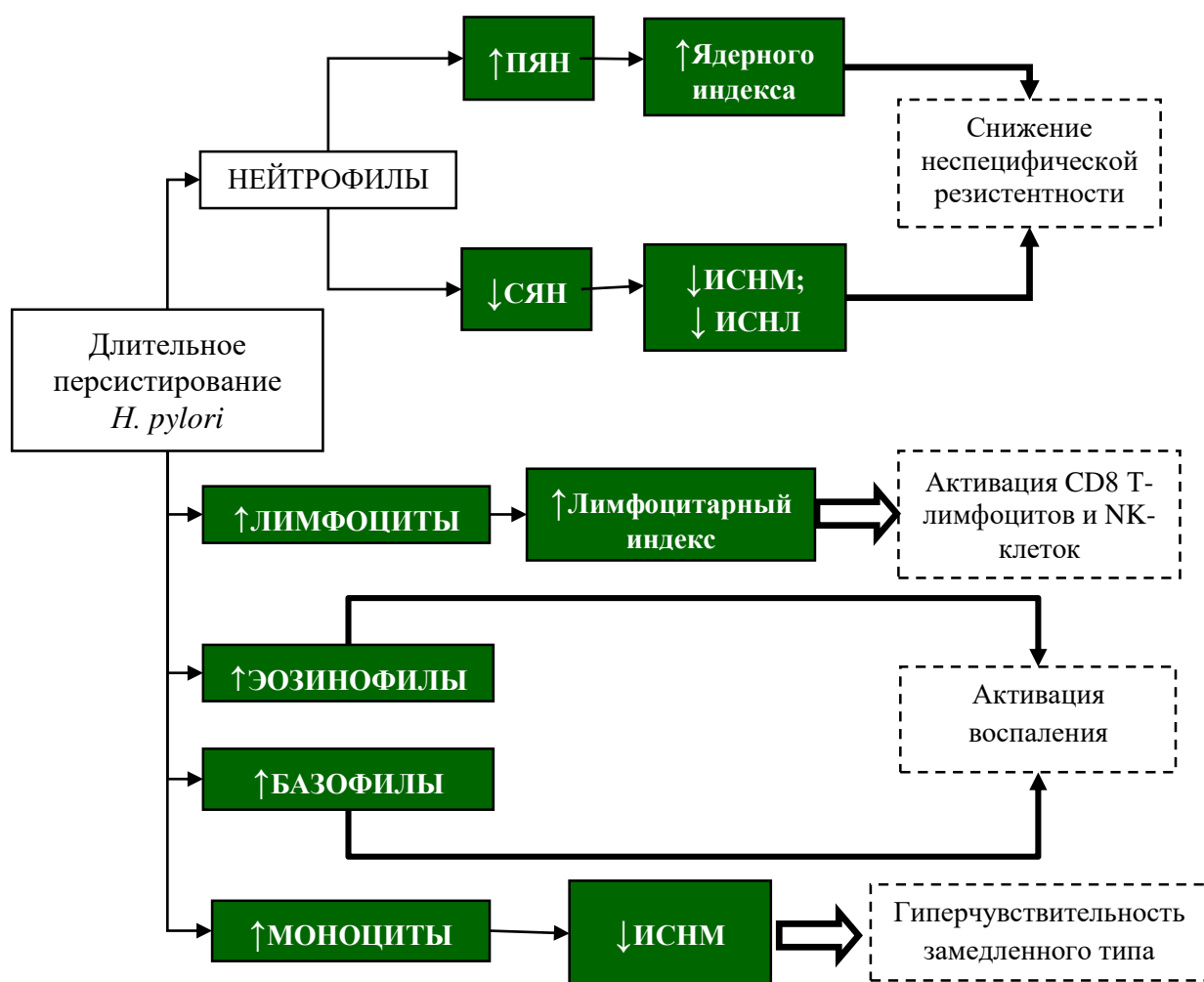


Рисунок 14 - Влияние *H. pylori* на активность лейкоцитов крови при формировании хронического воспаления при атрофическом гастрите (по результатам собственных исследований и по данным Авдеенко Т.В. [2]; Васильева Ю.В. [22]; Потёмной Т.Е. [121]; Черешнева В.А. [153]; Piauelo M.B. [254])  
Примечание: цветом выделены результаты собственных исследований

Возможно, это обусловлено прогрессирующим распространением *H. pylori* в слизистой оболочке желудка, сопровождающимся развитием иммунновоспалительной реакции в системном кровотоке [113]. Так, у больных с ПХГ изменения в лейкоцитарной формуле были менее выражены относительно контроля и носили относительный характер, проявляясь в незначительном повышении эозинофилов и палочкоядерных нейтрофилов. При ПХГ развитие местной воспалительной реакции характеризуется инфильтрацией собственной пластинки слизистой нейтрофилами, лимфоцитами, макрофагами, плазматическими клетками, формированием лимфоидных фолликулов и повреждением эпителия различной степени выраженности [47]. Скопление лейкоцитов, возможно, обусловлено повреждением клеток железистого эпителия желудка и запуском в них апоптоза, индуцированного за счет прямого и опосредованного воздействия *H. pylori*. При этом компенсаторно усиливается пролиферативная активность эпителиоцитов слизистой оболочки желудка, что способствует уравниванию апоптоза [74]. По мнению Satoh Y. и соавторов, вызванное воспаление носит локальный характер, не выходит за пределы слизистой оболочки желудка и не приводит к системным изменениям, которые бы проявлялись в показателях крови [264].

При АХГ изменения в лейкоцитарной формуле были более выражены и достоверно отличались от больных с ПХГ и группы контроля (таблица 15, 16). Так, у больных с АХГ наблюдалось увеличение относительного и абсолютного содержания в крови базофилов, эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов на фоне уменьшения относительного количества сегментоядерных нейтрофилов. При этом количество лимфоцитов повышалось незначительно. Сходные данные были представлены в работах Y. Kondo [221] и T. J. Karttunen [216]. Повышение иммунокомпетентных клеток в периферической крови, можно рассматривать как общую реакцию организма на инфицирование патогеном и вызванную им деструкцию тканей, способствующую проникновению антигенов в системный кровоток [188, 283].

Содержание лейкоцитов – это достаточно переменный показатель и зависит от совокупности различных факторов. Поэтому он не может быть использован как диагностический маркер при дифференцировке поверхностного и атрофического гастрита. Однако, оценить уровень воспалительного процесса при каждой клинической форме, а также состояние различных звеньев иммунной системы можно с помощью интегральных математических индексов, часть которых изменяется уже в преднозологическом периоде или на самых ранних стадиях заболевания [44].

Для комплексной оценки состояния организма в данном исследовании были использованы интегральные лейкоцитарные индексы. У больных с ПХГ достоверных различий в значениях большинства лейкоцитарных индексов выявлено не было, за исключением небольшого повышения ядерного индекса. У пациентов с АХГ значения большинства лейкоцитарных индексов достоверно отличались от группы здоровых доноров и больных ПХГ, что вероятно, характеризует системный уровень воспалительной реакции.

Системное воспаление, выявленное у больных АХГ, характеризуется несколькими показателями, ведущую роль в которых играет снижение количества сегментоядерных нейтрофилов. Вероятно, в связи с тем, что нейтрофилы играют одну из ключевых ролей в реализации неспецифической резистентности организма нарушение их содержания можно рассматривать как одну из причин хронизации воспаления [24]. Так, изменение количества нейтрофильных гранулоцитов привело к дегенеративному ядерному сдвигу влево и лейкоцитарному сдвигу клеток крови, что, вероятно, является следствием развития эндогенной интоксикации при АХГ.

Развитие эндогенной интоксикации при АХГ может быть обусловлено несколькими причинами. Во-первых, она могла развиваться в результате действия токсичных продуктов распада эпителиоцитов слизистой оболочки желудка под влиянием активных форм кислорода, выделяемых активированными нейтрофилами [14, 92].

Во-вторых, возможно, причиной интоксикации являются токсины *H. pylori*. Продуцируемые бактерией ферменты - фосфолипаза, муциназа, протеазы

разрушают защитный слизистый барьер желудка и воздействуют на мембраны клеток желудочного эпителия, тем самым, приводя к снижению резистентности клеток для действия соляной кислоты. Аммиак, образующийся под влиянием *H. pylori*, соединяется с соляной кислотой и образует цитотоксические продукты, в том числе гидроксиамин и монохлорамин, которые также повреждают эпителиоциты [240].

Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК) показывает отношение суммы эозинофилов, базофилов и нейтрофилов к сумме моноцитов и лимфоцитов. Повышение ИСЛК свидетельствует об активном воспалительном процессе и нарушении иммунологической реактивности. Его увеличение связано со снижением числа эозинофилов и повышении количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов [64, 65]. В данном исследовании было установлено уменьшение значения ИСЛК в группе пациентов с АХГ по сравнению с группой здоровых доноров (таблица 15). При этом в лейкоцитарной формуле крови больных АХГ наблюдалось увеличение абсолютного количества эозинофилов, базофилов на фоне снижения относительного количества сегментоядерных нейтрофилов и увеличения абсолютного количества моноцитов и лимфоцитов. Следовательно, при АХГ наблюдается перераспределение отдельных популяций лейкоцитов, характеризующееся снижением нейтрофильных гранулоцитов и повышением эозинофилов и моноцитов. Данное изменение может быть обусловлено сменой фаз воспалительной реакции и заменой процессов альтерации на пролиферативные. Возможно, понижение ИСЛК при АХГ можно рассматривать как показатель активного, но при этом адекватного и своевременного ответа лейкоцитов на воспалительный ответ в СОЖ и возможно расценивать как благоприятный признак [128].

Повышение значения ядерного индекса как в группе больных с ПХГ, так и в группе больных с АХГ, характеризующего увеличение содержания палочкоядерных нейтрофилов на фоне относительного снижения сегментоядерных нейтрофилов свидетельствует о дегенеративном ядерном сдвиге влево. Вероятно, выявленное омоложение популяции нейтрофилов может быть обусловлено



истощением резерва зрелых клеток и выходе из костного мозга менее дифференцированных, что вызвано длительностью воспаления. Однако, молодые формы нейтрофилов не способны к полноценной реализации своих функций. Они медленнее мигрируют из сосудов, так как, имеют меньше рецепторов к хемотоксинам, меньше продуцируют адгезинов, а также их ядро более ригидно («плохо образует талию»). В таких клетках содержится меньше специфических гранул, содержащих антимедиаторы [121]. Следовательно, преобладание незрелых форм нейтрофилов способствует снижению эффективности фагоцитоза, что способствует хронизации воспаления.

Уменьшение содержания нейтрофилов в периферической крови также отразилось на изменении индексов неспецифической резистентности и, прежде всего, на снижении индексов соотношения нейтрофилов и лимфоцитов, а также нейтрофилов и моноцитов (рисунок 14). Вероятно, при истощении основной популяции лейкоцитов периферической крови – сегментоядерных нейтрофилов – на первое место вышли другие иммунокомпетентные клетки. Так, согласно повышению лимфоцитарного индекса, который характеризует отношение лимфоцитов к нейтрофилам и отражает взаимоотношение гуморального и клеточного звена иммунной системы [65], в группе больных с АХГ было выявлено преобладание лимфоцитов над нейтрофилами. Вероятно, неполноценность первой линии защиты против бактериальной инфекции, реализуемой посредством фагоцитоза нейтрофилами, приводит к активации второй линии защиты - лимфоцитов, реализующих специфический иммунный ответ [92]. Однако, эффективность лимфоцитарного звена также недостаточна для полной элиминации патогена. Согласно, литературным данным, при сохранении количества лимфоцитов в пределах значений контрольной группы, как и в данном исследовании, возможны изменения в перераспределении субпопуляций лимфоцитов с разными фенотипами. Так, было показано, что при хроническом гастрите происходит снижение содержания лимфоцитов с маркером CD4<sup>+</sup> (Т-хелперов) и повышение лимфоцитов CD8<sup>+</sup> (Т-киллеров) и CD16 (NK-клеток) [8, 40].

Следовательно, при *H. pylori*-ассоциированном воспалении 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 [40].

На фоне относительного снижения нейтрофилов у больных с АХГ наблюдается повышение количества моноцитов в периферической крови. В результате определения индекса соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ) было выявлено, что в группе больных с АХГ ИСНМ был ниже, чем в группе здоровых доноров и больных с ПХГ. Вероятно, это обусловлено тем, что при ПХГ ведущую роль в реализации воспалительного процесса играют нейтрофилы, а при АХГ на первый план выходят моноциты. Так как при АХГ повышается количество разрушенных клеток, которые необходимо утилизировать. Хронический процесс при АХГ ассоциирован с мононуклеарной и лимфоцитарной инфильтрацией, которая отражает напряжённость местного иммунного ответа, однако элиминации *H. pylori* не происходит и мононуклеарная инфильтрация служит основой прогрессирования или персистенции воспаления [22].

Повышение моноцитов в периферической крови также может быть вызвано развитием реакции гиперчувствительности замедленного типа, триггером которой является *H. pylori* (рисунок 14). В основе этой реакции лежит сенсibilизация Т-лимфоцитов, активирующих Т-хелперы 1 типа, которые осуществляют выброс медиаторов: гранулоцитарномоноцитарный и моноцитарный колониестимулирующие факторы, которые усиливают моноцитопоз в костном мозге и привлекают моноциты в зону воспаления [153].

Кроме увеличения содержания моноцитов у больных с АХГ также наблюдается повышение эозинофилов и базофилов. Известно, что эозинофилы и тучные клетки также участвуют в иммунном ответе на *H. pylori* [2]. Так, было показано, что эозинофилы способны за счет высвобождения дефензинов и пероксидазы повреждать клеточные стенки бактерий с последующим их лизисом, а также образовывать бактерицидный белок, способный связываться и

нейтрализовать бактериальные липополисахариды [70]. Согласно литературным данным, высокая плотность эозинофилов в слизистой оболочке желудка обнаружена у больных с *H. pylori*-ассоциированным раком желудка [254]. Предполагают, что в области с низким риском рака желудка повышенная плотность эозинофилов ассоциирована с Th2-иммунным ответом и канцеропротективным эффектом, в области с высоким риском эозинофилы способствуют Th1-иммунному ответу в СОЖ, что ассоциировано с развитием предраковых изменений [254].

Кроме того, есть сведения, что в основе развития *H. pylori*-ассоциированного хронического гастрита лежит именно базофильное воспаление. Так как выделяемый базофилами гистамин стимулирует H<sub>2</sub>-рецепторы и вызывает секрецию соляной кислоты, что и приводит к поражению желудка [108].

Таким образом, можно предположить, что при ХГ, ассоциированном с *H.pylori*-инфекцией, происходит активное местное воспаление, характеризующееся глубокими дистрофическими и атрофическими изменениями СОЖ. При этом хронический гастрит прогрессирует от поверхностного к атрофическому [14]. Проследить этот переход можно при оценке изменений в лейкоцитарной формуле, в которой отражаются особенности системного воспаления.

#### **4.2. Характеристика фагоцитарной активности нейтрофилов при *H.pylori*-ассоциированном хроническом гастрите**

Фагоцитарная активность лейкоцитов является одним из показателей состояния естественной резистентности. Нарушение функциональных свойств фагоцитирующих клеток при хронических заболеваниях органов пищеварения проявляется в изменении миграционной, хемотаксической, адгезивной, ферментативной и бактерицидной активности. Изменение фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови характеризуется снижением фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса, показателя завершенности фагоцитоза. Угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов способствует внутриклеточному персистированию антигенов в фагоцитах и незавершенному

характеру фагоцитоза. Отрицательное влияние на функции фагоцитов оказывают продукты тканевого распада, эндотоксины, циркулирующие иммунные комплексы, которые вызывают функциональную перегрузку клеток. Функциональная перегрузка фагоцитов этими агентами приводит к нарушению элиминации циркулирующих иммунных комплексов, их длительной персистенции [117].

В условиях хронической персистирующей бактериальной инфекции происходит истощение функциональной активности нейтрофилов. При этом наблюдается снижение неспецифической резистентности организма, а также повреждение собственных клеток. Причинами подавления функционирования нейтрофилов могут быть как сама бактерия, так и несостоятельность иммунной системы организма.

Инфицирование *H. pylori* запускает преимущественно клеточное звено иммунитета [226]. В данном случае оно более эффективно по сравнению с гуморальным, что обусловлено рядом причин. Во-первых, невозможностью выделения IgG в просвет желудка при относительном дефиците секреторных IgA. Во-вторых, недоступностью бактерии для антител в слое желудочной слизи, а также «антигенной мимикрией» бактерии [278, 285]. Следовательно, выработки антител класса IgG недостаточно для нейтрализации антигенов бактерии, что способствует длительной антигенной стимуляции и развитию хронической инфекции. Так, в данном исследовании было показано, что у больных с ПХГ и АХГ в периферической крови наблюдался диагностический уровень специфических антител IgG к *sagA H. pylori* (от 1:10 до 1:80) и составил 79,6 % и 75,7 % соответственно. Наличие высокого титра специфических антител подтверждает инфицированность данным возбудителем, а также может говорить о наличии хронической инфекции. Также, вероятно, повышенный титр специфических антител IgG является следствием присутствия в полости желудка именно токсичных штаммов *H. pylori* [42]. Предполагается, что выработке иммуноглобулинов способствует повышение обсеменённости слизистой оболочки желудка за счет увеличения экспрессии рецепторов адгезии ELAM-1 [76, 113]. Кроме того, в работах Н.А. Захаровой с соавторами была выявлена прямая

взаимосвязь между титром специфических антител к *cagA H. pylori* и наличием язвенных дефектов [48]. При этом было показано, что у больных поверхностным и атрофическим гастритом титры антител были ниже, чем у больных с язвенной болезнью желудка [48]. Следовательно, наличие титра антител позволяет говорить о тяжести заболевания и может характеризовать переход от поверхностного гастрита к атрофическому.

Несмотря на выработку специфических антител эрадикации бактерии не происходит. В связи с чем ключевую роль в уничтожении патогена должны выполнять клеточные факторы врожденного иммунного ответа - нейтрофилы. Нейтрофилы – наиболее многочисленная популяция иммунокомпетентных клеток, которые одновременно участвуют в выполнении функций специфического и неспецифического иммунитета [42]. Необходимость оценки фагоцитарной активности нейтрофилов при *H. pylori*-инфекции обусловлена их ведущей ролью в реализации иммунного ответа против бактерии.

Активация нейтрофилов при инфицировании *H. pylori* осуществляется за счет двух механизмов. Во-первых, это синтез бактерией белка NAP-A, привлекающего в очаг воспаления большое количество нейтрофилов [83]. Во-вторых, при адгезии на клетках эндотелия *H. pylori* индуцирует продукцию ими спектра цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , которые запускают миграцию нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов в очаг воспаления из кровеносного русла [86, 133, 142]. Дефицит противовоспалительных цитокинов и их рецепторов приводит к развитию иммунодефицита, способствующего формированию очага хронического воспаления, аутоиммунных процессов, истощению функциональной активности фагоцитов [23]. При этом наиболее сильным хемоаттрактантом для нейтрофилов является IL-8. Данный цитокин через усиление лигандорецепторных взаимодействий (интегринов CD11b/CD18 на нейтрофилах и молекул адгезии ICAM-1 на эндотелиоцитах) стимулирует адгезию нейтрофилов к эндотелию и последующую их экстравазацию. Кроме того, активация фагоцитарных клеток сопровождается их дегрануляцией, выбросом лизосомальных ферментов, эйкозаноидов, реактивных метаболитов кислорода, которые направлены на

уничтожение бактерии. Нейтрофилы, пришедшие в места колонизации *H.pylori*, также активно продуцируют различные провоспалительные цитокины – IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , INF, IL-6, IL-12, усиливая тем самым выраженность местной воспалительной реакции и инициируя запуск специфического иммунного ответа на более поздних этапах [106, 110, 133]. Следовательно, проникновение *H.pylori* в организм приводит к активации нейтрофилов и их привлечению в очаг воспаления, что в дальнейшем должно приводить к эрадикации возбудителя. Однако, этого не происходит по ряду причин и ведущее место в развитии *H. pylori*-ассоциированного заболевания отводится дефекту именно в прорыве неспецифического клеточного звена [47, 117].

В данном исследовании было показано, что при ПХГ и АХГ нейтрофилы способны вступать в фагоцитоз, однако, их поглотительная активность при этом снижена. У больных с АХГ уменьшение поглотительной способности было более выражено (таблица 18). Вероятно, данное явление можно объяснить несколькими причинами. Во-первых, влиянием *H.pylori* на процесс фагоцитоза. Так, согласно литературным данным, *H.pylori* создает условия, препятствующие фагоцитозу путем торможения адгезии лейкоцитов посредством имеющихся на ее поверхности гемагглютининов и повреждения мембраны фагоцитов за счет аммиака, образующегося под влиянием уреазы [69, 154]. Также в торможении процесса фагоцитоза принимают участие синтезируемые бактерией ферменты. Супероксиддисмутаза, которая препятствует контакту бактериальной клетки с лейкоцитами, и каталаза, которая нейтрализует пероксид водорода в фагоцитарных вакуолях и предохраняет микроорганизм от действия активных радикалов, выделяемых нейтрофилами и макрофагами [154]. Следовательно, бактерия не позволяет поглотить себя фагоцитом, а если это происходит, то она синтезирует ферменты, которые препятствуют ее лизису, что приводит к персистенции бактерии в фагоцитах. Нарушение переваривания антигена приводит к перегрузке нейтрофилов и снижению их функциональной активности, а затем и ускоренной гибели [46, 126] (рисунок 15).

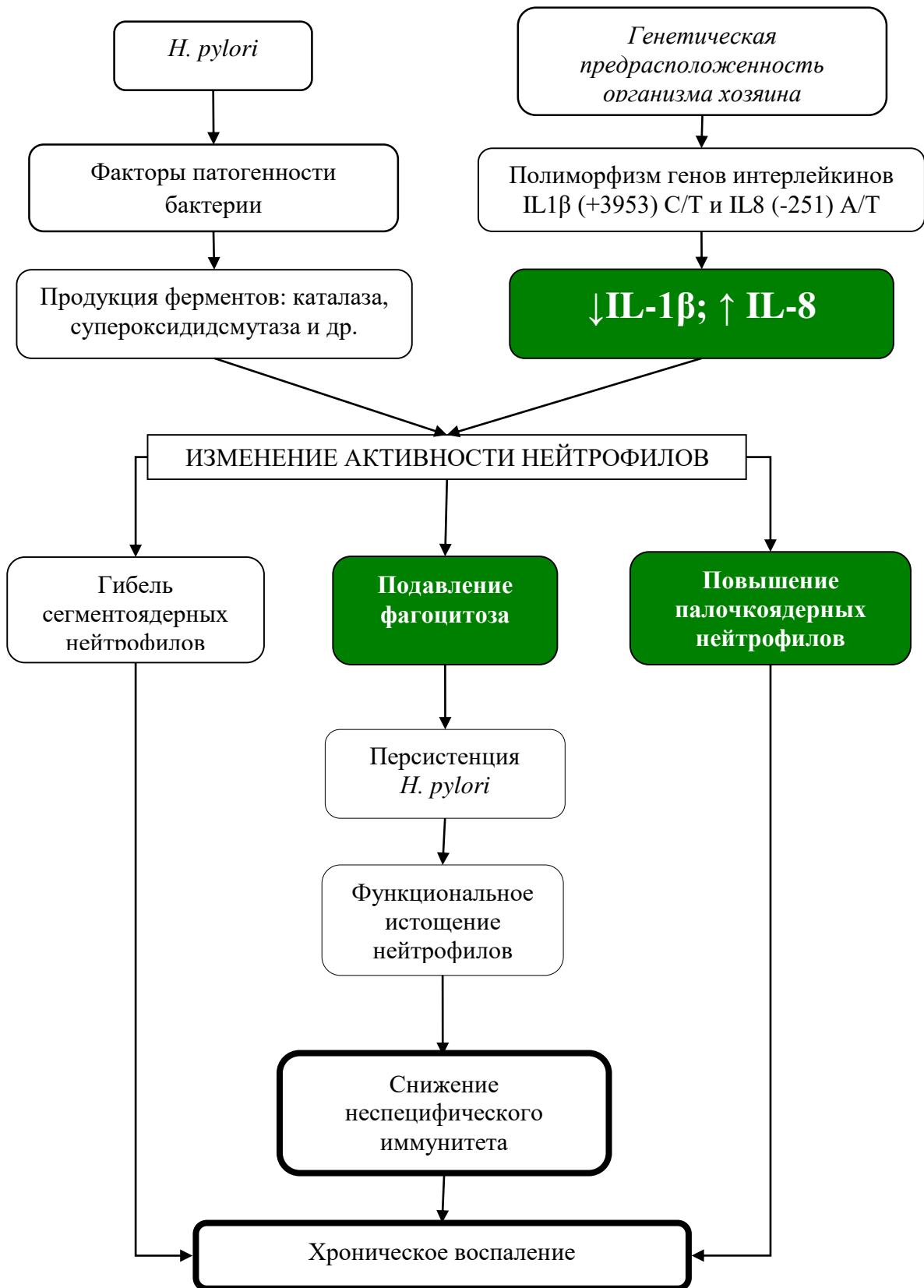


Рисунок 15 - Факторы, влияющие на функционирование нейтрофилов при *H. pylori* - ассоциированном воспалении

(по результатам собственных исследований и по данным Васильевой Г.И. [23]; Железняковой Н.М. [46]; Козловой Н.Н. [69]; Шкитина В.А. [154])

Примечание: цветом выделены результаты собственных исследований

Подавление поглотительной способности нейтрофилов, сочетающееся при этом с высокой активностью к синтезу супероксидных радикалов, усиливает интенсивность воспалительного процесса [37, 105]. Активные формы кислорода вызывают повреждение эпителиальных клеток генеративных зон слизистой оболочки желудка, что способствует нарушению в них процессов апоптоза и накоплению генетических мутаций. Следствием этого может являться развитие диспластических процессов в слизистой оболочке желудка [17, 180, 249].

Во-вторых, снижение поглотительной способности может быть обусловлено исходно низкой функциональной активностью нейтрофилов, что и способствовало развитию хронической инфекции. Известно, что популяция нейтрофилов неоднородна [30] и отличается по экспрессии рецепторов, уровню окислительного метаболизма, величине мембранного потенциала и фагоцитарной активности. По способности генерировать активные формы кислорода и взаимодействовать с субстратом популяцию нейтрофилов делят на два класса: нейтрофилы-киллеры и нейтрофилы – кейджеры. Установлено, что нейтрофилы-киллеры активно продуцируют АФК, поэтому их относят к потенциальным фагоцитам, в то время как нейтрофилы-кейджеры обладают меньшей способностью продуцировать АФК и, вероятно, выполняют транспортную функцию, доставляя фагоцитированные частицы в компетентные органы для уничтожения [28, 29]. Нейтрофилами – киллерами являются клетки маргинального пула, а также часть клеток циркулирующего пула (примерно 82,5% от всей популяции нейтрофилов периферической крови). Не исключено, что помимо нейтрофилов-киллеров и нейтрофилов-кейджеров, в организме могут иметь место и функционально другие нейтрофилы, а внутри обеих субпопуляций существует функциональная неравнозначность [1, 30].

Вероятно, при *H. pylori* - инфекции в слизистую оболочку желудка могут мигрировать преимущественно нейтрофилы-киллеры, осуществляющие фагоцитоз и способные к активной продукции АФК, которыми являются зрелые сегментоядерные нейтрофилы. При этом в системном кровотоке может происходить перераспределение в популяции нейтрофилов в сторону нейтрофилов



– кейджеров, выступающих в качестве транспортеров фагоцитированных объектов. При этом в периферической крови больных не было выявлено изменений в содержании общего количества лейкоцитов, однако, у больных с АХГ наблюдалось повышение абсолютного количества палочкоядерных нейтрофилов на фоне снижения сегментоядерных нейтрофилов. В связи с тем, что молодые нейтрофилы не имеют специфических гранул и соответствующих рецепторов они не способны к завершённому фагоцитозу. Также можно предположить, что установленное снижение фагоцитарной активности обусловлено тем, что в фагоцитоз вступали нейтрофилы-кейджеры.

Кроме того, на процесс фагоцитоза нейтрофилов оказывает влияние уровень продукции иммуннорегуляторных цитокинов, прежде всего, IL-1 $\beta$  и IL-8. Так, в данном исследовании была выявлена прямая взаимосвязь между продукцией IL-1 $\beta$  и количеством сегментоядерных нейтрофилов. Согласно литературным данным низкий уровень IL-1 $\beta$  коррелирует с нарушением фагоцитарного процесса, что способствует диссеминации инфекции [98].

Интерлейкин IL-1 $\beta$  в основном продуцируется стимулированными моноцитами и макрофагами и, в меньшей степени, некоторыми другими типами клеток, включая нейтрофилы, кератиноциты, эпителиальные и эндотелиальные клетки, лимфоциты, гладкомышечные клетки и фибробласты [184]. IL-1 $\beta$  обладает широким спектром действия: инициирует и регулирует воспалительные, иммунные процессы, активирует нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, стимулирует синтез белков острой фазы, цитокинов (IL-2, IL-3, IL-6, TNF- $\alpha$ ), молекул адгезии (Е-селектинов), прокоагулянтов, простагландинов. IL-1 $\beta$  повышает хемотаксис, фагоцитоз, гемопоэз, проницаемость сосудистой стенки, цитотоксическую и бактерицидную активность [184, 196].

Работами разных авторов показано, что в начале воспалительного заболевания происходит повышение продукции IL-1 $\beta$  [19, 38, 63, 88]. По мере уменьшения активности воспалительного процесса наблюдается снижение IL-1 $\beta$ , что вероятно, может расцениваться как показатель завершения патологического процесса и начала процессов регенерации [112].

В данном исследовании было выявлено, что у пациентов с ПХГ и АХГ в системе *in vitro* спонтанная продукция IL-1 $\beta$  была снижена, по сравнению с группой контроля (таблица 17). Использование митогена в культуре клеток практически не стимулировало секрецию клетками IL-1 $\beta$ , как в группе больных с ПХГ, так и в группе с АХГ. Сохранение резервных возможностей лейкоцитов при дополнительной стимуляции митогеном наблюдалось у больных ПХГ, а при АХГ индекс стимуляции не имел достоверных различий относительно группы контроля и пациентов с ПХГ. Базальный уровень IL-1 $\beta$  в исследуемых группах варьировал в широких пределах от 0 до 300 пкг/мл, что, вероятно, свидетельствовало о различном функциональном состоянии иммунной системы в виде угнетения, отсутствия активации, либо активации. При оценке резервных возможностей клеток-продуцентов при разном уровне продукции IL-1 $\beta$  было выявлено, что при гипосекреции наблюдается сохранение резервных возможностей, а при гиперсекреции происходит их истощение. Возможно, именно уровень продукции интерлейкина детерминирует степень активности воспаления и его исходы (рисунок 16).

Для выявления роли генетической предрасположенности в развитии воспаления при хроническом поверхностном и атрофическом гастритах было проведено молекулярно-генетическое исследование полиморфного локуса (+3953) С/Т гена IL1 $\beta$ .

Среди больных с ПХГ достоверно чаще выявлялся гомозиготный генотип IL1 $\beta$  (+3953) С/С, при котором уровень продукции интерлейкина IL-1 $\beta$  был ниже по сравнению с другими вариантами гена. Кроме того, согласно критерию отношения шансов, предрасположенность к развитию ПХГ также ассоциирована с генотипом IL1 $\beta$  (+3953) С/С. По литературным данным этот генотип рассматривается как низкопродуцирующий [35]. Следовательно, установленный низкий уровень продукции IL-1 $\beta$  у больных с ПХГ обусловлен низкопродуцирующим генотипом IL1 $\beta$  (+3953) С/С. При этом протективным фактором в развитии ПХГ выступает генотип IL1 $\beta$  (+3953) С/Т, при котором наблюдается высокая продукция цитокина. Полученные данные позволяют

предположить, что при локальном воспалении слизистой оболочки желудка адекватная продукция IL-1 $\beta$  обусловлена генотипом IL1 $\beta$  (+3953) C/T.

Кроме выявленной генетической предрасположенности на уровень экспрессии IL-1 $\beta$  оказывают влияние и другие факторы. В частности, высокая продукция антогониста мембранного рецептора IL-1Ra, который подавляет эффекты IL-1 $\beta$ , но одновременно с этим по принципу отрицательной обратной связи происходит увеличение продукции IL-1 $\beta$  [9]. Однако, при гиперсекреции цитокина может произойти истощение резервных возможностей клеток-продуцентов, что также будет способствовать развитию хронического персистирующего воспаления.

Низкий уровень продукции интерлейкина IL-1 $\beta$  активирует меньшее количество нейтрофилов, которые являются основной причиной развития воспаления в СОЖ. При этом, вероятно, их активности оказывается недостаточно для полной элиминации патогена, что способствует внутриклеточному выживанию *H. pylori* в фагоцитах и приводит к длительной персистенции бактерии [69]. Следовательно, при слабой экспрессии IL-1 $\beta$  развивается вялотекущее воспаление, не заканчивающееся полной эрадикацией возбудителя.

При АХГ как спонтанный, так и ФГА-индуцированный уровень продукции IL-1 $\beta$  был снижен по сравнению с группой контроля. При анализе продукции цитокина в зависимости от полиморфного варианта гена было выявлено, что у больных с АХГ наиболее распространенным генотипом являлся IL1 $\beta$  (+3953) C/T, который рассматривается в качестве среднепродуцирующего [35]. При этом полиморфном варианте гена была установлена наибольшая продукция IL-1 $\beta$ . Согласно критерию отношения шансов предрасположенность к развитию АХГ ассоциирована с генотипом IL1 $\beta$  (+3953) T/T, который по литературным данным является высокопродуцирующим [35]. Следовательно, причиной развития АХГ является гиперсекреция IL-1 $\beta$ , детерминированная высокопродуцирующим генотипом.

При гиперсекреции IL-1 $\beta$  наблюдается развитие активного воспаления, которое может приводить в одном случае к элиминации возбудителя, а в другом -

к массивному повреждению клеток и тканей, усилению дисрегенерации и атрофии [120, 134]. Повышенная секреция интерлейкина IL-1 $\beta$  индуцирует привлечение большого количества нейтрофилов в очаг воспаления и продукцию ими активных форм кислорода, что приводит к повреждению клеток и тканей. Кроме того, гиперпродукция IL-1 $\beta$  ингибирует выработку соляной кислоты в желудке, что способствует колонизации *H.pylori* [89].

Однако, несмотря на ассоциацию продукции цитокина с высокопродуцирующим генотипом, уровень IL-1 $\beta$  остался сниженным при АХГ. Скорее всего, это является отражением истощения резервных возможностей клеток-продуцентов в результате массивного выброса медиаторов воспаления и ускоренного потребления факторов иммунной защиты на фоне длительной стимуляции иммунной системы хроническим воспалительным процессом. Низкий уровень продукции IL-1 $\beta$  при АХГ, согласно факторному анализу, является одним из ключевых иммунорегуляторных факторов, лежащих в основе патогенеза данного заболевания. Кроме того, при АХГ, также, как и при ПХГ, вероятно, наиболее адекватной является продукция IL-1 $\beta$ , обусловленная генотипом IL-1 $\beta$  (+3953) С/Т.

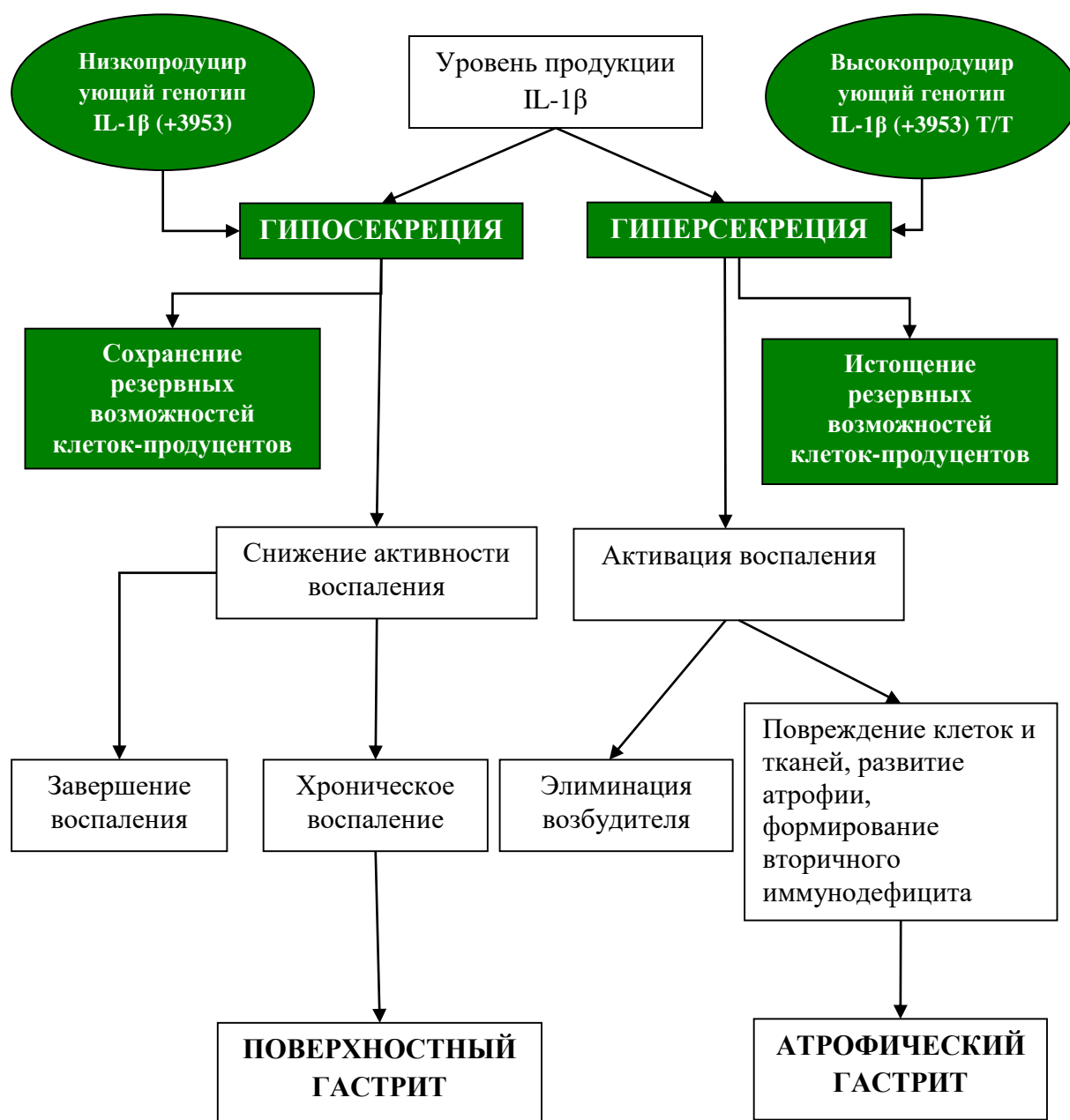


Рисунок 16 - Роль уровня продукции IL-1 $\beta$  в формировании поверхностного и атрофического хронического гастрита

(по результатам собственных исследований и по данным Маев И.В. [89]; Павленко В.В. [112]; Потапнев М.П. [120]; Симбирцев А.С [134])

Примечание: цветом выделены результаты собственных исследований

Наряду с гипопродукцией IL-1 $\beta$ , у больных с ПХГ и АХГ была установлена гиперпродукция IL-8. Интерлейкин-8 является одним из важных провоспалительных цитокинов. IL-8 выполняет функцию хемотаксического фактора для нейтрофилов и играет ведущую роль в привлечении их в очаг воспаления *in vivo* [23, 66]. Он вызывает экспрессию молекул межклеточной адгезии и усиливает прилипание нейтрофилов к эндотелиальным клеткам и

субэндотелиальным матричным белкам, что свидетельствует о его основной роли в опосредовании воспалительного ответа [67]. Клетками-продуцентами IL-8 являются макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты, эпителиальные клетки, фибробласты, клетки эпидермиса [66]. Кроме того, *H.pylori* непосредственно стимулирует секрецию IL-8 желудочными эпителиоцитами [69].

В нашем исследовании было показано, что спонтанная продукция IL-8 как при ПХГ, так и при АХГ статистически значимо выше данного показателя, по сравнению с группой контроля (таблица 19). ФГА-индуцированная продукция IL-8 в группе больных с ПХГ была статистически значимо выше данного показателя в группе контроля.

В результате выявления генетической предрасположенности к высокой продукции IL-8 был проведен анализ полиморфизма гена IL-8 в локусе (-251) T>A. Наиболее распространенным генотипом при ПХГ был IL8 (-251) T/A, который считается высокопродуцирующим [202]. Так, в данном исследовании при этом варианте гена наблюдалась наибольшая продукция IL-8. Следовательно, при ПХГ гиперсекреция IL-8 детерминирована высокопродуцирующим генотипом IL-8 (-251) T/A. Полученные результаты совпадают с литературными данными [6]. Кроме того, согласно результатам факторного анализа гиперэргическая реакция к синтезу IL-8 является одним из ключевых факторов, приводящих к развитию ПХГ.

При АХГ наиболее распространенным генотипом является гомозиготный вариант IL8 (-251) T/T. Кроме того, согласно критерию отношения шансов данный генотип ассоциирован с предрасположенностью к развитию АХГ. Уровень продукции IL-8 при генотипе IL8 (-251) T/T был выше, чем в группе здоровых доноров, однако, не имел статистически значимых различий по сравнению с уровнем продукции при генотипе IL8 (-251) T/A. Гомозиготный вариант IL8 (-251) A/A у больных с АХГ встречен не был. Наличие аллели А способствует высокой экспрессии цитокина [202]. Следовательно, можно предположить, что при АХГ высокая продукция IL-8 может быть обусловлена не только полиморфным вариантом гена, но и другими причинами.

Скорее всего, повышенный уровень IL-8 при АХГ был вызван повышением количества клеток-продуцентов, что было показано при анализе лейкоцитарной формулы крови. Кроме того, гиперпродукция IL-8 может являться следствием усиления воспалительной реакции в ответ на инфицирование токсигенными штаммами CagA(+) *H.pylori* [169, 192, 289]. При этом, гиперсекреция IL-8, согласно проведенному факторному анализу, является одним из основных иммунорегуляторных факторов, модулирующих развитие АХГ.

Однако, несмотря на высокую продукцию IL-8 этого оказывается недостаточно для полного уничтожения патогена, а лишь способствует истощению клеток-продуцентов. Высокий уровень продукции данного цитокина отражает активность воспалительного процесса, а также свидетельствует о происходящих альтеративно-деструктивных процессах в СОЖ под воздействием активированных нейтрофилов и макрофагов [98, 150]. За счет повышенной секреции IL-8, вероятно, поддерживается интенсивность клеточного ответа на бактериальную обсемененность у больных с хроническим гастритом. В результате повышения активности нейтрофилов происходит гибель собственных клеток СОЖ. Кроме того, активация нейтрофилов также способствует секреции цитокинов-медиаторов воспаления и привлечения других иммунокомпетентных клеток, усиливая адгезию и дегрануляцию нейтрофилов, активируя выброс супероксидных радикалов и фагоцитоза [134]. Также вероятно, что *H. pylori* целенаправленно вызывает чрезмерную активацию и быстрое истощение клеток иммунной системы [50, 99], что в последующем приводит к шеддингу (сбрасывание) рецепторов с поверхности клеток и развитию синдрома «иммунологического парализиса» [67].

Таким образом, при *H. pylori* - инфекции происходит усиленная продукция IL-8, что приводит к развитию инфильтрации СОЖ, запуску воспалительной реакции. Высокий уровень продукции данного цитокина отражает степень активности воспалительного процесса в СОЖ. Повышение IL-8 на фоне снижения продукции других цитокинов, вероятно, можно рассматривать как компенсацию, что приводит к поддержанию хронического воспаления.

### 4.3. Характеристика цитокин-продуцирующей способности лейкоцитов при *H. pylori*-ассоциированном хроническом гастрите

Основным звеном патогенеза при *H.pylori*-персистентной инфекции является нарушение механизмов регуляции Th1/Th2-путей иммунного ответа, которые обуславливают клинический полиморфизм и исход заболевания [71, 110]. Ключевым регулятором, поддерживающим баланс Th1/Th2-путей иммунного ответа является IL-2.

IL-2 продуцируется преимущественно Т-хелперами 1 типа, а его эффекты направлены на функционирование Т- и В- лимфоцитов, моноцитов. К эффектам цитокина относятся инициация и регулирование преимущественно клеточного иммунного ответа, стимуляция пролиферации и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов в клетки – эффекторы, синтез цитокинов, антител [66, 146, 150]. Th1-клетки осуществляют хелперную функцию в формировании клеточного иммунитета и обеспечивают защиту организма от внутриклеточных патогенов, тогда как Th2 осуществляют хелперную функцию при стимуляции гуморального иммунитета, активируя В-клетки к продукции антител, что способствует нейтрализации и выведению из организма внеклеточных патогенов. Т-хелперы не только выполняют различные функции в иммунном ответе, но и продуцируют различные наборы цитокинов в ответ на антигенную стимуляцию. Th1-типа продуцируют преимущественно IL-2 и INF- $\gamma$ , Th2-типа - IL-4, IL-5, IL-10 и др. [61, 219].

В защите макроорганизма от *H.pylori* на ранней стадии персистенции основное значение приобретают клеточные адаптивные реакции иммунного ответа [110, 238]. При колонизации *H.pylori* в СОЖ происходит лимфоидная инфильтрация и секреция Th1-цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ) [183]. Считается, что именно местный Th1-ответ играет значимую роль в антибактериальной защите, так как препятствует колонизации *H.pylori* в слизистой оболочке [77, 89, 160]. При этом уровень и скорость продукции IL-2 может играть амбивалентную роль в патогенезе гастродуоденальной патологии. С одной стороны,



эффективное воспаление СОЖ будет препятствовать колонизации патогена. С другой стороны, выраженность воспаления коррелирует с деструкцией собственных тканей [69, 75]. Вероятно, что снижение цитокина является плохим прогностическим признаком, свидетельствующим о гибели клеток-продуцентов [157].

В данном исследовании было получено, что в группе пациентов как с ПХГ, так и с АХГ спонтанный и ФГА-индуцированный уровень IL-2 был ниже по сравнению с группой контроля. Снижение продукции IL-2 указывает на уменьшение регуляторной активности Т-лимфоцитов хелперов [78]. Однако, при оценке индекса стимуляции было выявлено, что в обследуемых группах сохраняются резервные возможности клеток-продуцентов. Кроме того, была показана корреляция между спонтанной продукцией IL-2 и общим количеством лейкоцитов ( $r=0,61$ ;  $p<0,05$ ), а также спонтанной продукцией IL-2 и относительным содержанием сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов и лимфоцитов. Активированные Т-клетки продуцируют IL-2 и экспрессируют высокоафинные рецепторы к IL-2 на поверхности клетки, вызывая, таким образом собственную пролиферацию [69]. Вероятно, тот факт, что общее количество лейкоцитов у больных ПХГ и АХГ не изменился относительно контроля, может свидетельствовать о нарушении продукции данного цитокина и снижении его регуляторной роли в иммунном ответе.

Также продукцию IL-2 способен усиливать IL-1 $\beta$  [45]. В данном исследовании у больных с ПХГ была выявлена прямая корреляционная связь между ФГА-индуцированной продукцией IL-2 и резервным уровнем IL-1 $\beta$  ( $r=0,76$ ;  $p<0,05$ ). Вероятно, снижение продукции IL-1 $\beta$  также приводит к уменьшению уровня IL-2.

В результате оценки влияния генетической предрасположенности к продукции цитокина было выявлено, что наиболее распространенным генотипом среди больных с ПХГ был IL2 (-330) G/G. Этот генотип ассоциирован с экспрессией продукта в наибольшем количестве, по сравнению с вариантами T/G или T/T [205]. В данном исследовании при генотипе IL2 (-330) G/G продукция IL-2 была выше, чем при гетерозиготном варианте, но не имела статистически значимых отличий по

сравнению с другими вариантами гена. Согласно критерию отношения шансов предрасположенность к развитию ПХГ ассоциирована с генотипом IL2 (-330) G/T, при котором наблюдалась низкая по сравнению с гомозиготными вариантами продукция цитокина. Генотип IL2 (-330) T/T может выступать в качестве протективного фактора при развитии ПХГ, уровень продукции IL-2 при котором также был выше по сравнению с гетерозиготным вариантом. Кроме того, при генотипах IL2 (-330) G/T и IL2 (-330) G/G уровень продукции цитокина был статистически значимо ниже по сравнению с группой контроля. При этом, гипосекреция IL-2, согласно проведенному факторному анализу, является одним из основных иммунорегуляторных факторов, модулирующих развитие ПХГ. Вероятно, именно недостаточность экспрессии IL-2 приводит к персистированию инфекции.

При АХГ чаще всех встречался генотип IL2 (-330) G/T, кроме того, была показана ассоциация с данным генотипом. Уровень продукции IL-2 при гетерозиготном варианте гена, также как и при ПХГ, не имел статистически значимых различий по сравнению с другими, но при этом был ниже, чем в группе контроля.

Следовательно, как при ПХГ, так и при АХГ на уровень продукции IL-2 кроме генетической предрасположенности оказывают влияние и другие факторы. Во-первых, низкий уровень может быть связан с уменьшением субпопуляций клеток-продуцентов. Уменьшение субпопуляций лимфоцитов происходит под действием индуцируемого *H.pylori* апоптоза, что приводит к формированию иммунологической недостаточности [8, 72]. Подтверждением этого являются данные, показывающие снижение абсолютного и относительного количества CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>- лимфоцитов у больных с *H.pylori* -ассоциированным хроническим гастритом по сравнению с контролем [8]. Снижение количества лимфоцитов также может быть обусловлено угнетением процессов лимфопролиферации. В качестве причины этого процесса рассматривают недостаточность активирующего сигнала, связанного с низким уровнем продукции активирующих цитокинов, либо с гиперпродукцией ингибирующих цитокинов [8].

С другой стороны, на низкий уровень продукции IL-2 может влиять высокая рецепторная активность клеток-мишеней (эндотелиоцитов, эпителиоцитов, париетальных клеток и др.), находящихся непосредственно в очагах повреждения, а также наличие растворимых рецепторов в кровотоке, позволяющих эффективно связывать циркулирующие цитокины и способствовать угнетению пролиферации и дифференцировке цитотоксических лимфоцитов [8].

Вероятно, снижение продукции IL-2 также может быть обусловлено длительной антигенной стимуляцией, которая привела к повышению иммунологической толерантности иммунной системы к данному патогену, что способствовало формированию слабой напряженности иммунного ответа.

Антагонистом IL-2 является IL-4, который синтезируется Т-хелперами 2 типа. При этом продукция цитокина ингибирует продукцию IL-2, а, следовательно, запускает функционирование Т-хелперов 2 типа. Эффекты IL-4 направлены в основном на Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы. IL-4 ограничивает распространенность и интенсивность воспаления, ингибирует синтез макрофагами провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- $\alpha$ , образование высокоактивных метаболитов кислорода, азота. Данный цитокин стимулирует фибробласты, Т- и В-лимфоциты, гуморальный иммунитет, синтез иммуноглобулинов, прежде всего IgG, IgE [66, 146, 150].

В данном исследовании было получено, что спонтанный уровень IL-4 в группе больных с ПХГ не имел статистически значимых различий, по сравнению с группой здоровых доноров. Данный факт может быть расценен как свидетельство нарушения передачи сигнала Т-хелперам, так как в ответ на антигенную стимуляцию уровень данного цитокина должен повышаться [159]. Вероятно, это свидетельствует о функциональной несостоятельности прежде всего Th1-типа как основных продуцентов IL-2, при котором различные хелперные клоны лимфоцитов в разной степени неодинаково воспринимают активационные сигналы [25].

В группе больных с АХГ базальный уровень IL-4 был статистически значимо ниже относительно группы контроля. ФГА-стимулированная продукция IL-4 в обеих обследуемых группах (АХГ и ПХГ) не имела достоверных отличий по

сравнению с группой контроля. При определении соотношения ФГА/СП было установлено, что в группе пациентов с ПХГ и АХГ индекс стимуляции продукции лимфоцитами ИЛ-4 не имел статистически значимых различий по сравнению с группой контроля. Снижение продукции ИЛ-4 у больных с АХГ свидетельствует о дефиците Th2-клеток и снижении реактогенного потенциала этих клеток, обеспечивающих активацию В-лимфоцитов к продукции антител и осуществляющих таким образом хелперную функцию в отношении гуморального иммунитета [115].

Снижение содержания ИЛ-4 может быть отражением недостаточной активации противовоспалительных защитных механизмов в очаге воспаления и снижения местной иммунной защиты, так как ИЛ-4 принимает активное участие в синтезе высокоафинных защитных IgA [147]. Кроме того, дефицит ИЛ-4 способствует увеличению апоптоза мононуклеарных клеток крови [58].

Была показана связь между продукцией ИЛ-4 и ИЛ-2 ( $r=0,87$ ;  $p<0,05$ ), а также между ИЛ-4 и абсолютным количеством лимфоцитов ( $r=0,58$ ;  $p<0,05$ ). Вероятно, снижение уровня ИЛ-2 приводит к недостаточности сигнала для Th2-клеток, которые, в свою очередь, не продуцируют необходимого количества ИЛ-4.

При определении соотношения ИЛ-2/ИЛ-4 было выявлено, что при ПХГ и АХГ наблюдается преобладание продукции ИЛ-2 над ИЛ-4. Вероятно, несмотря на то, что уровень продукции ИЛ-2 снижен, но, его концентрация выше, чем ИЛ-4, что позволяет предположить преобладание клеточного иммунного ответа при *H.pylori*-инфекции. Вероятно, при *H.pylori*-инфекции эффективность антибактериального звена принадлежит Th1-иммунитету, в связи с недостаточностью гуморального [4, 110, 200].

Оценка соотношения ИЛ-1 $\beta$  /ИЛ-4 показала, что как в группе больных с ПХГ, так и в группе больных с АХГ содержание ИЛ-1 $\beta$  больше, чем ИЛ-4. Снижение противовоспалительных цитокинов и нарастание провоспалительных говорит о хронизации процесса [60]. Однако, при этом уровень провоспалительных цитокинов также считается сниженным в результате снижения количества клеток-продуцентов [147]. Все это свидетельствует о том, что при *H.pylori* на фоне

вялотекущего воспаления происходит дисфункция Т-хелперных механизмов регуляции иммунного ответа. Свидетельствует о смещении баланса цитокинов крови в провоспалительном направлении.

Фактором, ингибирующим синтез цитокинов, является IL-10. Он стимулирует пролиферацию и активирует В-лимфоциты. Вместе с IL-3 и IL-4 он стимулирует пролиферацию тучных клеток. Это иммуномодулятор широкого спектра действия с выраженным иммуносупрессивным эффектом [67]. Клетки–продуценты IL-10 Th2-клетки, цитотоксические Т-лимфоциты, моноциты.

В результате определения содержания IL-10 в группах больных с *H.pylori*-ассоциированным хроническим гастритом было установлено, что у пациентов как с ПХГ, так и с АХГ спонтанный уровень IL-10 был снижен, что свидетельствует о недостаточной его секреции, вероятно, в связи с нарушением функционирования Т-хелперов 2 типа. В обеих исследуемых группах наблюдалось сохранение резервных возможностей клеток к продукции данного цитокина. Однако, вероятно, в результате недостаточности сигналов его функции не были реализованы, что способствовало развитию хронического воспаления.

Возможно, причинами низкого уровня IL-10 в группах больных с ПХГ и АХГ является влияние других продуцируемых цитокинов. Так, в результате проведенного корреляционного анализа было выявлено, что у больных с ПХГ между спонтанным уровнем IL-10 и базальным уровнем IL-8 была выявлена обратно пропорциональная зависимость ( $r=-0,66$ ;  $p<0,05$ ). Вероятно, низкий уровень IL-2 нарушает активацию Т-хелперов 2, что приводит к снижению IL-10. При этом высокая продукция IL-8 подавляет продукцию IL-10, что является причиной хронизации процесса.

Таким образом, можно предположить, что при *H.pylori*-ассоциированном хроническом гастрите происходит преобладание продукции провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 $\beta$ , IL-2 и IL-8. При этом, несмотря на низкие концентрации IL-1 $\beta$  и IL-2 относительно контроля их уровень выше, чем противовоспалительных IL-4 и IL-10. Вероятно, что при ХГ в начале инфицирования *H.pylori* приводит к гиперактивности иммунокомпетентных клеток

и сопровождается повышенной продукцией цитокинов, однако, при длительной антигенной стимуляции происходит истощение клеток-продуцентов и снижение секреции цитокинов. Следствием этого может стать формирование вторичного иммунодефицита и снижение иммунной защиты макроорганизма против бактерии, что способствует длительной персистенции и формированию хронического воспаления. На снижение секреции цитокинов также оказывает влияние индуцируемый *H.pylori* апоптоз лимфоцитов и макрофагов. Кроме того, вероятно, при *H.pylori*-инфекции активируется преимущественно Th1-путь иммунного ответа, который является менее эффективным в защите от бактерии. Однако, при этом также происходит недостаточная активация Th2-лимфоцитов и, как следствие, не развивается протективный гуморальный иммунный ответ.

## Заключение

Исследование иммунокомпетентных клеток при *H.pylori*-ассоциированном хроническом гастрите позволило выявить ряд особенностей, характеризующих их количественное содержание и функциональное состояние, что отражается на реализации иммунного ответа. Угнетение врожденного иммунитета приводит к неэффективности и специфического звена иммунного ответа, что способствует хронизации воспалительного процесса.

На основании полученных результатов были выявлены ведущие иммунопатогенетические факторы, способствующие развитию ПХГ и АХГ при персистирующей бактериальной инфекции. Для ПХГ характерны следующие изменения: преобладание продукции ИЛ-2 над ИЛ-4; гиперпродукция ИЛ-8, снижение продукции ИЛ-10. Показателями патологических процессов при АХГ являются: повышение палочкоядерных нейтрофилов, базофилов, эозинофилов, моноцитов и снижение сегментоядерных нейтрофилов в системном кровотоке, а также гиперпродукция ИЛ-8, уменьшение концентрации ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-4, подавление фагоцитарной активности нейтрофилов. Выявленные отличительные особенности количественного содержания лейкоцитов и их цитокин-продуцирующая активность могут быть использованы для оценки риска развития атрофического гастрита.

## ВЫВОДЫ

1. В составе лейкоцитарной формулы крови у больных с *H. pylori*-ассоциированным ПХГ соотношение клеток не изменяется, а у пациентов с *H. pylori*-ассоциированным АХГ повышается количество клеток неспецифического звена иммунного ответа: гранулоцитов и моноцитов.
2. При развитии *H. pylori*-ассоциированного ПХГ показатели фагоцитоза нейтрофилов и интегральных лейкоцитарных индексов не изменяются. АХГ, ассоциированный с *H. pylori*-инфекцией, характеризуется снижением фагоцитарного числа нейтрофилов (9,0 (8,0-15,0) абс.ед. против 13,0 (10,0-20,0),  $p=0,042$ ), показателей лейкоцитарных индексов: лейкоцитарного индекса интоксикации Рейса (0,8 (0,6-1,2) против 1,5 (1,2-1,9),  $p=0,005$ ), индекса сдвига лейкоцитов крови (1,0 (0,7-1,4) против 1,5 (1,2-2,1),  $p=0,018$ ), индекса соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (0,9 (0,7-1,3) против 1,5 (1,3-2,3)  $p=0,025$ ); индекса соотношения нейтрофилов и моноцитов (10,4 (6,0-17,7) против 31,1 (10,7-141,5)  $P=0,027$ ) и повышением лимфоцитарного индекса (1,1 (0,7-1,4) против 0,6 (0,4-0,8)  $p=0,023$ ) и ядерного индекса (0,3 (0,2-0,5) против 0,1 (0,0-0,1)  $p=0,0001$ ).
3. При *H. pylori*-ассоциированных ПХГ и АХГ уменьшается спонтанная и ФГА-индуцированная концентрация интерлейкинов: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4 и IL-10. Резервные возможности к продукции данных цитокинов сохраняются, что способствует длительному хроническому воспалению. Гиперпродукция IL-8 сопровождается снижением резервных возможностей клеток продуцентов.
4. В условиях *H. pylori*-инфекции при ПХГ и АХГ хроническое воспаление обусловлено преобладанием провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8) над противовоспалительными (IL-4 и IL-10).
5. При ПХГ наиболее распространенными полиморфными вариантами генов интерлейкинов являются IL1 $\beta$  (+3953) C/C; IL2 (-330) G/G и IL8 (-251) T/A, а при АХГ - IL1 $\beta$  (+3953) C/T; IL2 (-330) G/T и IL8 (-251) T/T. Как у больных с ПХГ, так и с АХГ наибольшая продукция IL-1 $\beta$  наблюдается при генотипе IL1 $\beta$  (+3953) C/T;



IL-8 при генотипе IL8 (-251) T/A. Низкая продукция цитокинов в обеих обследуемых группах установлена при генотипах IL1 $\beta$  (+3953) T/T и IL8 (-251) T/T.

6. Предрасположенность к развитию ПХГ показана в сочетании с генотипами IL1 $\beta$  (+3953) C/C и IL2 (-330) G/T, а к АХГ – в сочетании с генотипами IL1 $\beta$  (+3953) T/T; IL2 (-330) G/T и IL8 (-251) T/T. В качестве защитных факторов могут выступать генотипы IL1 $\beta$  (+3953) C/T и IL2 (-330) T/T для ПХГ и генотип IL1 $\beta$  (+3953) C/C для АХГ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абакумова, Т. В. Функциональная неравнозначность нейтрофилов периферической крови при экспериментальном раке шейки матки / Т. В. Абакумова, С. О. Генинг, Д. Р. Долгова и др. // Медицинский академический журнал. Приложение. – 2012. - С. 12-13.
2. Авдеенко, Т. В. Роль инфекционной составляющей и воспалительного инфильтрата в патогенезе рака желудка / Т. В. Авдеенко, М. В. Вусик, Р. И. Плешко и др. // Сибирский онкологический журнал. - 2011. - № 5. - С. 79–86.
3. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия: руководство / Г. Г. Автандилов М.: Медицина, 1990. - 382 с.
4. Агеева, Е. С. Иммунологические особенности течения гастродуоденальной патологии у жителей Хакасии / Е. С. Агеева, О. В. Штыгашева, В. В. Цуканов и др. // Иммунология. - 2009. - № 3. - С. 162 - 165.
5. Агеева, Е. С. Молекулярно-генетические факторы, влияющие на исход инфицирования *Helicobacter pylori* у жителей Республики Хакасия / Е. С. Агеева, О. В. Штыгашева, Н. В. Рязанцева и др. // Российский журнал Гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2010. - №4. - С. 16-21.
6. Агеева, Е. С. Особенности ассоциации полиморфных маркеров -251 Т>А гена IL-8 и полиморфизм генов *Helicobacter pylori* у коренных и пришлых жителей Хакасии / Е. С. Агеева, О. В. Штыгашева // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. - №2 (84). - С. 9 - 12.
7. Агеева, Е. С. Популяционные особенности ассоциации полиморфизма генов интерлейкинов с патологией желудка и двенадцатиперстной кишки у хакасов / Е. С. Агеева, О. В. Штыгашева, Н. В. Рязанцева // Терапевтический архив. - 2011. - №2. - С.16-19.
8. Агеева, Е. С. Роль нарушений системы цитокинов в патогенезе *Helicobacter pylori*-ассоциированной патологии / Е. С. Агеева, О. В. Штыгашева, В. М. Иптышев и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. - № 6. – С. 5-9.

9. Агеева, Е. С. Этнопопуляционные особенности распределения полиморфизма гена IL-1 $\beta$  при *Helicobacter pylori*-ассоциированной гастродуоденальной патологии / Е. С. Агеева, О. В. Штыгашева, Н. В. Рязанцева и др. // Бюллетень сиб. Медицины. – 2011. - №3. - С. 14-18.
10. Александрова, В. А. Сравнительный анализ методов определения *Helicobacter pylori* у детей / В. А. Александрова, А. Б. Жебрун, Л. Б. Гончарова // Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей. - 2001. - С. 80 - 84.
11. Александрова, Ю. Н. О системе цитокинов / Ю. Н. Александрова // Педиатрия. – 2007. – № 3. – С. 125-127.
12. Андерсен, Л. Клеточный иммунный ответ организма на инфекцию *Helicobacter pylori* / Л. Андерсен, А. Норгаард, М. Беннедсен // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 1999. - №2. – С. 22 - 26.
13. Анкудинова, С. А. Морфофункциональные изменения слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите у лиц молодого возраста / С. А. Анкудинова, Н. Н. Заречнова, Г. Р. Кибарова // Вестник КРСУ. - 2008. - Т. 8. - № 4 - С. 83 - 87.
14. Аруин, Л. И. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника / Л. И. Аруин, Л. Л. Капуллер, В. А. Исаков. — М.: Триада-Х, 1998. — 420 с.
15. Аруин, Л. И. Новая классификация хронического гастрита / Л. И. Аруин, А. В. Кононов, С. И. Мозговой // Актуальные вопросы патологической анатомии: Материалы III съезда Рос. общ. патологоанатомов.— Самара, 2009.— Т. 1.— С. 5—8.
16. Аруин, Л. И. Хронический гастрит / Л. И. Аруин, П. Я. Григорьев, В. А. Исаков, Э. П. Яковенко. – Амстердам, 1993. – 362 с.
17. Бабак, О. Я. Современные представления об оценке риска развития и профилактике рака желудка / О. Я. Бабак // Сучасна Гастроентерологія. - 2009. - № 6 (50) - С. 62 - 66.
18. Барышникова, Н. В. Особенности распространенности инфекции и вирулентности штаммов *Helicobacter pylori* в Санкт-Петербурге / Н. В. Барышникова, Ю. П. Успенский, А. С. Смирнова и др. // Российский журнал гастроэнтерологии,

- гепатологии, колопроктологии (прил. 38; Материалы Семнадцатой Российской гастроэнтерологической недели). – 2011. – Т. 21. - № 5. – С. 21.
- 19.Бельмер, С. В. Значение цитокинов в патогенезе воспалительных заболеваний толстой кишки у детей / С. В. Бельмер, А. С. Симбирцев, О. В. Головенко и др. // Российский медицинский журнал. – 2003. - Т. 11.- №3. – С. 17-22.
- 20.Беляков, И. М. Иммунная система слизистых / И.М. Беляков // Иммунология. – 1997. - № 4. – С. 7- 12.
- 21.Бордин, Д. С. Хронический гастрит: современный взгляд на старую проблему / Д. С. Бордин, А. А. Машарова, С. Г. Хомерики // Сучасна Гастроентерологія. – 2013. - № 1 (69). - С.72-79.
- 22.Васильев, Ю. В. Патогенетические аспекты *Helicobacter pylori* / Ю. В. Васильев, В. С. Беляева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2006. - №1. – С. 28-36.
- 23.Васильева, Г. И. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами / Г. И. Васильева, И. А. Иванова, С. Ю. Тюкавкина // Иммунология. – 2000. – № 5 – С. 11 -17.
- 24.Висмонт, Ф. И. Воспаление (патофизиологические аспекты): уч. метод. пособие / Ф. И. Висмонт. – Мн.: БГМУ, 2006. – 48 с.
- 25.Воронкова, О. В. Особенности иммунного дисбаланса при различных клинко-патогенетических вариантах остро прогрессирующего туберкулеза легких / О. В. Воронкова, О. И. Уразова, В. В. Новицкий и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. - № 3. - С. 42 – 50.
- 26.Гаджиев, Дж. Н. Оценка цитокинового профиля у больных с острым калькулезным холециститом Дж. Н. Гаджиев, А. Г. Гусейналиев, Э. Г. Тагиев, и др. // Вестн.С.-Петербург. ун-та. Сер. 11. - 2012. - Вып. 3. - С. 102–108.
- 27.Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение: руководство для врачей / под ред. А. В. Калинина, А. Ф. Логинова, А. И. Хазанова. – 3-е изд., перераб. и доп. – М. : МЕДпресс-информ, 2013. – 848 с. : ил.

28. Герасимов, И. Г. Неоднородность нейтрофилов в фагоцитозе и респираторном взрыве / И. Г. Герасимов // Клиническая лабораторная диагностика. - 2004. - №6. - С. 34-36.
29. Герасимов, И. Г. Особенности активации нейтрофилов *in vitro* / И. Г. Герасимов, Д. Ю. Игнатов // Цитология. - 2004. - Т. 46, N 2. - С. 155-158.
30. Герасимов, И. Г. Функциональная неоднородность нейтрофилов / И. Г. Герасимов // Клиническая лабораторная диагностика. - 2006. - № 2. - С. 34-35.
31. Герман, С. В. Распространенность инфекции *H. pylori* среди населения Москвы / С. В. Герман, И. Е. Зыкова, А. В. Модестова и др. // Российский журнал Гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. - 2010. - № 2. - С.25-30.
32. Герман, С. В. Эпидемиологические особенности пилорической хеликобактерной инфекции в Москве / С. В. Герман, И. Е. Зыкова, А. В. Модестова и др. // Гигиена и санитария. - 2011. - № 2. - С. 44-48.
33. Гончарик, И. И. Хронический гастрит: практ. Пособие / И. И. Гончарик // Минск: БГМУ. Практик. Пособие. Мн.: Ураджай, 2002. - 32 с.
34. Григорьев, П. Я. *Helicobacter pylori*: гастрит, дуоденит, язвенная болезнь / П. Я. Григорьев // Практикующий врач. - 1999. - № 16 (3). - С. 3-6.
35. Громова, А. Ю. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека / А. Ю. Громова, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. - 2005. - № 2. - С. 24 -35.
36. Губергриц, Н. Б. Хронический гастрит: насколько это просто? / Н. Б. Губергриц // Сучасна гастроентерологія. — 2010. — №3 (53). — С. 58-69.
37. Гуреев, А. Н. Роль иммунных механизмов в развитии язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у детей / А. Н. Гуреев, С. С. Хромова, Л. Н. Цветкова и др. // Педиатрия. - 2006. - № 6. - С. 23-27.
38. Гучетль, Е. В. Уровни содержания IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  у пациентов с внелегочным туберкулезом разной степени активности / Е. В. Гучетль, Н. В. Колесникова, А. Е. Дорошенкова // Кубанский научный медицинский вестник. - 2005. - № 5. - С. 77 - 79.
39. Данилова, Л. А. Анализы крови и мочи / Л. А. Данилова. — 4 изд. — СПб.: Салит-мед книга, 2002. — 128 с.

40. Дворкин, М. И. Клинико-иммунологические сдвиги у больных хроническим гастритом и язвенной болезнью в зависимости от степени обсемененности *Helicobacter pylori* / М. И. Дворкин // Вестник КРСУ. - 2012. - Т. 12. - № 9. - С.44-47.
41. Денисов, Н. Л. Хронический гастрит с позиций взаимодействия иммунного, инфекционного и морфологического факторов / Н. Л. Денисов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. - 2008. - № 6. - С. 22 - 26.
42. Диброва, Ю. А. Особенности иммунитета у пациентов при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / Ю. А. Диброва, А. А. Стасенко // Клінічна хірургія. – 2009. - № 3. – С. 9-14.
43. Домарадский И. В. Вопросы патогенности *Helicobacter pylori* / И. В. Домарадский // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2001. - №2. - С.113-115.
44. Дябкин, Е. В. Состояние иммунной системы при патологии печени / Е. В. Дябкин, С. С. Дунаевская, Ю. С. Винник // Новости хирургии. – 2011. – Т. 19. - №1. - С. 112 - 116.
45. Егорова, В. Н. Интерлейкин-2: обобщённый опыт клинического применения / В. Н. Егорова, А. М. Попович, И. В. Бабаченко, и др. — СПб. «Ультра Принт», 2012. — 98 с.
46. Железнякова, Н. М. Иммунологические маркеры воспаления при впервые выявленной пептической язве двенадцатиперстной кишки / Н. М. Железнякова // Український терапевтичний журнал. - 2005. - №1. – С. 43-46.
47. Зак, М. Ю. Классификация хронического гастрита: от Сиднейской системы к системе OLGA / М. Ю. Зак // Сучасна гастроентерол. – 2010. – №6 (56). – С. 116–126.
48. Захарова, Н. А. ХЕЛИК-тест и тест *СagA*-серопозитивности в мониторинге диспансерной группы пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки / Н. А. Захарова, А. С. Сарсенбаева, С. Н. Теплова // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. - 2010. - № 4. - С. 31-34.

49. Злакоманова, О.Н. Состояние системы цитокинов у детей с травматической болезнью / О.Н. Злакоманова // Травматология и ортопедия России. – 2008. – С.65-71.
50. Иванис, В. А. Значение цитокинового статуса в изучении иммунопатогенеза инфекционных болезней / В. А. Иванис, Е. В. Маркелова, Л. Ф. Скляр и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. — 2004. — № 2. — С. 36-39.
51. Ивашкин, В. Т. Комитет экспертов. Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых / В. Т. Ивашкин, И. В. Маев, Т. Л. Лапина и др. / Рос. журн. гастроэнт. гепатол. колопроктол. — 2012. — № 1. — С. 87–89.
52. Ивашкин, В. Т. Основные понятия и положения фундаментальной иммунологии / В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2008. – № 4. – С. 4–14.
53. Ивашкин, В. Т. Хронический гастрит, вызванный инфекцией *Helicobacter pylori*: диагностика, клиническое значение, прогноз. Пособие для врачей / В. Т. Ивашкин, А. А. Шептулин, Т. Л. Лапина. – М., 2009. – 24 с.
54. Ивашкин, В. Т. Эрадикация инфекции *H. pylori* и ремиссия язвенной болезни: однозначны ли эти состояния? // *Helicobacter pylori*: революция в гастроэнтерологии / под ред. В. Т. Ивашкина, Ф. Мегро, Т. Л. Лапиной. – М.: Триада-Х, 1999. – С. 81–87.
55. Ильина, А. Е. Интерлейкин 1 как медиатор воспаления и терапевтическая мишень / А. Е. Ильина, М. Л. Станислав, Л. Н. Денисов и др. // Научнопрактическая ревматология. – 2011. – № 3. – С. 62–71.
56. Исаков, В. А. Молекулярногенетические основы патогенности *Helicobacter pylori* / В. А. Исаков // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2002. - № (12) 6. – С. 82 - 85.
57. Исаков, В. А. Хеликобактериоз / В. А. Исаков, И. В. Домарадский. - М: Медпрактика-М, 2003. – 412 с.
58. Казначеев, К. С. Механизмы развития цитокин-индуцированного апоптоза / К. С. Казначеев // Гематол. и трансфузиол. — 1999. — Т. 44. - № 1. — С. 40–43.

59. Камышников В. С. Методы клинических лабораторных исследований / В. С. Камышников, О. А. Вологовская, А. Б. Ходюкова – М.: МЕДпресс-информ, 2011. - 752 с.
60. Кельцев, В. А. Особенности циткоиновой регуляции при хронических вирусных гепатитах у детей / В. А. Кельцев, О. В. Чурбакова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. - Т.12. - №1 (7). - С. 1683 - 1686.
61. Кетлинский, С. А. Роль Т-хелперов типов 1и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета / С. А. Кетлинский // Иммунология. – 2002. - № 2. - С. 77 - 79.
62. Кетлинский, С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. – СПб: Фолиант, 2008 – 552 с.
63. Китаев, М. И. Провоспалительные и оппозиционные цитокины при хроническом обструктивном заболевании легких / М. И. Китаев // Вестник КРСУ. – 2012. – Т.12. – № 1. – С. 110–113.
64. Кобец, Т.В. Интегральные лейкоцитарные индексы как критерий оценки тяжести течения эндогенной интоксикации и эффективности проводимого лечения у детей с атопическим дерматитом [Электронный ресурс] / Т. В. Кобец, Е. В. Гостищева, А. А. Кобец и др. // Республиканская научно-практическая конференция «От научных разработок к внедрению в практику: педиатрия и детская хирургия». Алушта, 4—5 октября 2012. – 2012. - Режим доступа. — URL: [http://drcobez.narod.ru/st\\_025.htm](http://drcobez.narod.ru/st_025.htm) (дата обращения 03.12.2012).
65. Кобец, Т. В. Роль лейкоцитарных индексов в оценке адаптационно-компенсаторных возможностей чукотских детей, больных рецидивирующим бронхитом, на этапе санаторно-курортного лечения / Т. В. Кобец, В. Н. Некрасов, А. К. Мотрич // Вестник физиотерапии и курортологии. - 2003. - С. 47-48.
66. Козлов, В. А. Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений: руководство для врачей / В. А. Козлов, А. Г. Борисов, С. В. Смирнова, А. А. Савченко. - Новосибирск: Наука, 2009. - 274 с.
67. Козлов, В. А. Система цитокинов. Теоретические и клинические аспекты / В. А. Козлов. - Новосибирск: Наука, 2004. - С. 323.



68. Козлов, В. К. Цитокиноterapia: патогенетическая направленность при инфекционных заболеваниях и клиническая эффективность: Руководство для врачей / В. К. Козлов; ГОУВПО С.-Петерб. гос. мед. акад. им. И. И. Мечникова и др. — Санкт-Петербург: Альтер Эго, 2010. — 148 с.
69. Козлова, Н. Н. Иммуный ответ инфекции *Helicobacter pylori* / Н. Н. Козлова, В. Д. Прокопенко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2007. — № 4. — С. 58—62.
70. Колобовникова, Ю. В. Эозинофил и его роль в патологии / Ю. В. Колобовникова, О. И. Уразова, В. В. Новицкий и др. // Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2011. - № 2. - С. 6 – 13.
71. Кондрашина, Э. А. Особенности цитокинового профиля у пациентов с хроническим *H. pylori*-ассоциированным гастритом и язвенной болезнью / Э. А. Кондрашина, Н. М. Калинина, Н. И. Давыдова и др. // Цитокины и воспаление. - 2002. - Т. 1. - № 4. - С. 3—11.
72. Кондрашова, Э. А. Хронический гастрит и язвенная болезнь [Электронный ресурс] / Э. А. Кондрашова, Н. М. Калинина, Н. И. Давыдова и др. // Цитокины и воспаление. — 2002. — №4. — Режим доступа: <http://www.cytokines.ru/russian/2002/4/Art1.php>, свободный.
73. Коненков, В. И. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов / В. И. Коненков, М. В. Смольникова // Медицинская иммунология. - 2003. - Т. 5. - № 1-2. - С. 11 - 28.
74. Кононов, А. В. Морфология поверхностного и атрофического хронического гастрита при эрадикации *Helicobacter pylori* / А. В. Кононов, С. И. Мозговой, М. А. Ливзан и др. // Архив патологии. — 2005. — Т. 67. — С. 17-21.
75. Кононов, А. В. Воспаление как основа *Helicobacter pylori*-ассоциированных болезней / А. В. Кононов // Архив патологии. - 2006. - Т. 68. - Вып. 5. - С. 3—10.
76. Кононов, А. В. Местный иммунный ответ на инфекцию *Helicobacter pylori* // *Helicobacter pylori*: революция в гастроэнтерологии / Под ред. В. Т. Ивашкина, Ф. Мегро, Т. Л. Лапиной. — М.: Триада-Х, 1999. — С. 29—45.

77. Кононов, А. В. Молекулярная генетика и фенотип воспаления, вызванного *Helicobacter pylori* / А. В. Кононов // Омский научный вестник. - 2007. - № 3 - (61). - С. 17—23.
78. Конорев, М. Р. Современные представления о *Helicobacter pylori* / М. Р. Конорев, А. М. Литвяков, Л. П. Титов // Медицинские новости. – 1998. – №8. – С. 15-20.
79. Кудрявцева, Л. В. *Helicobacter pylori*- инфекция: современные аспекты диагностики и терапии (пособие для врачей) / Л. В. Кудрявцева, П. Л. Щербаков, И. О. Иваников и др. Москва, 2004 - 41 с.
80. Курилович, С. А. Эпидемиология заболеваний органов пищеварения в Западной Сибири / С. А. Курилович, О. В. Решетников. - Новосибирск: Наука, 2000. - 165 с.
81. Лазебник, Л. Б. *Helicobacter pylori*: распространенность, диагностика, лечение / Л. Б. Лазебник, Ю. В. Васильев, П. Л. Щербаков и др. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология — 2010. — № 2. — С. 3—7.
82. Лакин, Г. Ф. Биометрия: учебное пособие для биологических специальностей вузов / Г. Ф. Лакин. - 3 изд. перераб. и доп. – М.: Высшая Школа, 1980. - 293 с.
83. Ливзан, М. А. Факторы ответа хозяина на инфекцию *Helicobacter pylori* / М. А. Ливзан // Consilium Medicum. - 2010. — № 8. — Т. 12. — С. 10-14.
84. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли. - М.: Мир, 1969. - С.541-543.
85. Лифшиц, В. М. Медицинские лабораторные анализы: Справочник / В. М. Лифшиц, В. И. Сидельникова. – М.: Триада, 2003.- 480с.
86. Лысикова, М. Механизмы воспалительной реакции и воздействие на них с помощью протеолитических энзимов / М. Лысикова, М. Вальд, З. Масиновски // Цитокины и воспаление-2004. – Т.3. - №3 – С.48-53.
87. Ляликова, Ю. В. Распространенность Генотипов *VacA* и *CagA* *Helicobacter pylori* у детей и взрослых города Владивостока / Ю. В. Ляликова, В. А. Мирошниченко, Н. М. Тищенко и др. // Современные проблемы науки и образования. -2012. - № 4. - С. 77.
88. Мавров, Г. И. Иммунные нарушения при половых инфекциях множественной этиологии (*Herpes simplex*, *Chlamidiatrachomatis*, *Trichomonas vaginalis*) / Г. И.

- Мавров, А. Е. Нагорный // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. – 2010. - №3 (38). - С. 117 - 122.
- 89.Маев, И. В. Аллельный полиморфизм интерлейкина-1 $\beta$  при геликобактериозе / И. В. Маев, Ю. А. Кучерявый, Т. С. Оганесян // Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. – 2008. – Т. 18. - № 5. -С. 4 - 11.
- 90.Маев, И. В. Важные практические результаты и современные тенденции в изучении заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки / И. В. Маев, А. А. Самсонов, Н. Г. Андреев и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2012. - № 4. – С. 17—26.
91. Маев, И. В. Кишечная метаплазия слизистой оболочки желудка в практике гастроэнтеролога: современный взгляд на проблему / И. В. Маев, О. В. Зайратьянц, Ю. А. Кучерявый // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. - 2006. - № 4. - С. 38–48.
- 92.Маев, И. В. Принципы диагностики и рациональной фармакотерапии хронического гастрита / И. В. Маев, Н. Н. Голубев // Сучасна Гастроентерологія. – 2011. - № 1 (57). – С.64-70.
- 93.Маев, И. В. Причины неэффективности антигеликобактерной терапии / И. В. Маев, Ю. А. Кучерявый, Д. Н. Андреев // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2013. - № 6. - С. 62–72.
- 94.Маев, И. В. Современные представления о заболеваниях желудочно-кишечного тракта, ассоциированных с *Helicobacter pylori* / И. В. Маев // Терапевтический архив. – 2006. - № 78 (2). С. 10—5.
- 95.Маев, И. В. Эрозивный гастрит: отдельная нозологическая единица или универсальная реакция слизистой оболочки на повреждение? / И. В. Маев // Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии и Колопроктологии. – 2005. № 6. – С. 53.
- 96.Макаренко, Е. В. Влияние генотипов *Helicobacter pylori* на морфологические показатели слизистой оболочки желудка у больных дуоденальной язвой и

- хроническим гастритом / Е. В. Макаренко, А. В. Воропаева, М. Е. Матвеевко // Вестник ВГМУ. - 2009. — Т. 8. — № 3. — С. 88-96.
97. Макаренко, Е. В. Генетические факторы патогенности *Helicobacter pylori* / Е. В. Макаренко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2004. -№ 3. – С. 78-83.
98. Маркелова, Е. В. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях / Е. В. Маркелова, А. В. Костюшко, В.Е. Красников // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2008. -№ 3. - С. 24 - 29.
99. Маркелова, Е. В. Роль цитокинов в патогенезе пневмоний / Е. В. Маркелова, Е. В. Просекова, О. В. Недобыльский // Медицинская иммунология. — 2000. — Т. 2, № 4. — С. 12-16.
100. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник для студентов медицинских вузов / под ред. А.А.Воробьева. – 2-е изд., испр. и доп. – М. Медицинское информационное агентство, 2008. -704 с. ил.. таблица
101. Меньшиков, В. В. Лабораторные методы исследования в клинике / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая и др. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
102. Мирутко, Д. Д. *Helicobacter pylori*: патогенность, иммунный ответ организма и перспективы иммуномодулирующей терапии / Д. Д. Мирутко, А. В. Сапотницкий // Медицинский журнал. - 2005. — № 3. — С. 90-93.
103. Мосийчук, Л. Н. Хронический гастрит: современный взгляд на проблему / Л. Н. Мосийчук // Новости медицины и фармации. Гастроэнтерология. —2010. – С. 377.
104. Мустафина, Ж. Г. Интегральные гематологические показатели в оценке иммунологической реактивности организма у больных с офтальмопатологией / Ж. Г. Мустафина, Ю. С. Крамаренко, В. Ю. Кобцева // Клиническая лабораторная диагностика. — 1999. — № 5. — С. 47–48.
105. Некрасов, А. В. Особенности функционирования иммунной защиты у больных хеликобактерным гастритом / А. В. Некрасов, М. И. Дворкин, М. И. Китаев // Иммунология. - 2009. - № 1. - С. 50–55.

106. Нестерова, И. В. Цитокиновая регуляция и функционирующая система нейтрофильных гранулоцитов / И. В. Нестерова, Н. В. Колесникова // Гематология и трансфузиология. – 1999. – Т. 44. - № 2. – С.43-51.
107. Нижевич, А. А. Значение анти- саgА серологического иммунного ответа у детей с язвенной болезнью желудка и дпк, ассоциированной с НР / А. А. Нижевич, Е. С. Кучина, Э. Н. Ахмадеева // Фундаментальные исследования. – 2012. - № 4. – С. 212-215.
108. Нишева, Е. С. Базофильное воспаление в поражении желудочно-кишечного тракта при пищевой аллергии у детей / Е. С. Нишева, Т. Е. Садикова // Материалы V Российской научно-практической конференции «Аллергические и иммунопатологические заболевания – проблема XXI века. Санкт-петербург-2013»: 13-14 декабря Санкт-Петербург. – 2013. - С. 35-36.
109. Огороков, А. Н. Диагностика болезней внутренних органов / А. Н. Огороков. — М.: Мед. лит., 2000. — Т. 1. - 560 с.: ил.
110. Останин, А.А. Характеристика апоптотической и функциональной активности лимфоцитов у больных язвенной болезнью / А. А. Останин, А. И. Пальцев, А. Г. Лебедев и др. // Бюл. СО РАМН. - 2004. - № 1 (111). - С. 129—134.
111. Островский, В. К. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях / В. К. Островский, А. В. Мащенко, Д. В. Янголенко и др. // Клиническая лабораторная диагностика. — 2006. — № 6. — С. 50–53.
112. Павленко, В. В. Продукция интерлейкина -1 $\beta$  мононуклеарами периферической крови больных язвенным колитом / В. В. Павленко, А. В. Ягода // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. - 2001. - №5. - С. 37-40.
113. Павлов, О. Н. Носительство *Helicobacter pylori* как скрытый системный фактор риска / О. Н. Павлов // Медицинский альманах. – 2011. - №4 (17). - С.125-130.

114. Павлов, О. Н. Реакции иммунной системы слизистой оболочки на *Helicobacter pylori* / О. Н. Павлов // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. - № 3. - С. 41-47.
115. Павлова, И. Е. Т-хелперы 1-го и 2-го типа у больных, перенесших операции на селезенке в связи с травмой / И. Е. Павлова, Л. Н. Бубнова // Вестник Санкт-петербургского университета. - 2006. - Сер.11. - Вып. 3. - С.102-107.
116. Панин, Л. Е. Адаптация и рационализация питания / Л. Е. Панин // Механизмы адаптации человека в условиях высоких широт. – Л.: Медицина, 1980. – С.116-122.
117. Парахонский, А. П. Роль *Helicobacter pylori* в патологии желудочно-кишечного тракта / А. П. Парахонский // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 6 – С. 83-83.
118. Пасечников, В. Д. Роль внутрисемейного инфицирования в развитии *H. pylori* ассоциированной патологии гастродуоденальной зоны / В. Д. Пасечников, С. З. Чуков, М. Н. Злыднева и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2001. - № 1. - С.26-29.
119. Пиманов, С. И. Эзофагит, гастрит, и язвенная болезнь / С. И. Пиманов. - Н. Новгород, 2000. - 376 с.
120. Потапнев, М. П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция / М. П. Потапнев // Иммунология. - 2002. - № 4. - С. 237–245.
121. Потеемина, Т. Е. Воспаление (Системные изменения в организме при воспалении. Хроническое воспаление): метод. разработки для самостоятельной работы студентов медицинских вузов / Т. Е. Потеемина, В. А. Ляляев, С. В. Кузнецова. – Н. Новгород: НижГМА, 2010. – 33 с.
122. Прокопенко, В. Д. Клеточно – опосредованный иммунный ответ на *Helicobacter pylori* / В. Д. Прокопенко, В. Н. Нелюбин, В. П. Мудров и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2001. – Т. 11. - №5. – С. 25-30.
123. Пучков, Н. В. Роль иммуномодулирующей терапии в общеклинической практике / Н. В. Пучков, А. В. Некрасов // Иммунология. – 2000. – №5. – С. 34-39.

124. Решетников, О. В. Хеликобактерная инфекция в сибирских популяциях / О. В. Решетников, С. А. Курилович, С. А. Кротов и др. // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – Т. 30. - № 2. – С. 88 – 93.
125. Решетников, О. В. Мониторинг инфекции, вызванной *Helicobacter pylori*, в Новосибирске / О. В. Решетников, С. А. Курилович, С. А. Кротов и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. – 2008. – № 1. – С. 99–100.
126. Ройтберг, Г. Е. Лабораторная и инструментальная диагностика заболеваний внутренних органов. Руководство для врачей / Г. Е. Ройтберг, А. В. Струтынский. - 1999. — С. 118—133.
127. Рябиченко, Е. В. Роль активных форм кислорода, генерируемых фагоцитами, в патогенезе заболеваний / Е. В. Рябиченко, В. М. Бондаренко, В. В. Рябиченко // Журн. микробиол. — 2000. — № 4.— С. 65–71.
128. Сакович, А. Р. Интоксикационный синдром при остром гнойном синусите: клиничко-гематологическая оценка / А. Р. Сакович // Медицинская панорама. – 2009. – № 9. – С. 102–104.
129. Сарсенбаева, А. С. Методы диагностики инфекции *Helicobacter pylori*: учебное пособие / А. С. Сарсенбаева, Г. Л. Игнатова, С. В. Воротникова. - Челябинск.- ООО УралМедИнфо. - 2005. - 27с.
130. Сарсенбаева, А. С. Особенности *Helicobacter pylori* инфекции и иммунного ответа при тяжелом течении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / А. С. Сарсенбаева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. - 2005. - №6. - С. 73-75.
131. Сарсенбаева, А. С. Роль вирулентных штаммов *Helicobacter pylori* в формировании осложнений язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / А. С. Сарсенбаева // Известия Челябинского научного центра УрО РАН. - 2005. - № 2. - С. 145-148.
132. Сачек, М. Г. Эрадикационная терапия в профилактике и лечении анастомозита в хирургии язвенной болезни / М. Г. Сачек, С. Н. Ермашкевич // Новости хирургии. - 2010. – Т. 18. - №3 - С. 32-46.

133. Серебренникова, С. Н. Роль цитокинов в воспалительном процессе (сообщение 1) / С. Н. Серебренникова, И. Ж. Семинский // Сибирский медицинский журнал. – 2008. - № 6. - С.5-8.
134. Симбирцев, А. С. Цитокины - новая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. Т. 1. - №1. - С. 9 - 16.
135. Симбирцев, А. С. Толл-белки: специфические рецепторы неспецифического иммунитета / А. С. Симбирцев // Иммунология. – 2005. - № 6. – С. 368 — 377.
136. Симбирцев, А. С. Цитокины: классификация и биологические функции / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. - 2004. -Т. 3. - № 2. - С. 16–22.
137. Скворцов, В. В. Актуальные вопросы диагностики и лечения антрального гастрита типа В / В. В.Скворцов, Е. М. Скворцова // Поликлиника. – 2012. - №1. – С. 102-106.
138. Смагина, Н. В. Особенности иммунитета у мужчин с язвенной болезнью желудка и 12-перстной кишки, ассоциированной с *Helicobacter pylori* / Н. В. Смагина // Журнал микробиологии, вирусологии, иммунологии. – 2000. - № 2. – С. 57 - 60.
139. Смлян, А. И. Динамика интерлейкинов 1 $\beta$  и 10 у детей раннего возраста с острыми внегоспитальными пневмониями / А. И. Смлян, Т. П. Бында // Педиатрия. – 2009. – Т. 87. - №2. - С. 39-42.
140. Сперанский, И. И. Общий анализ крови — все ли его возможности исчерпаны? Интегральные индексы интоксикации как критерии оценки тяжести течения эндогенной интоксикации, ее осложнений и эффективности проводимого лечения / И. И. Сперанский, Г. Е. Самойленко, М. В. Лобачева // Здоровье Украины. - 2009. - № 6 (19). – С. 51-57.
141. Стандарты диагностики и лечения кислотозависимых и ассоциированных с *Helicobacter pylori* заболеваний (4-ое московское соглашение) приняты X съездом НОГР 5 марта 2010 года // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2010. – №5. – С. 113–118.



142. Старикова, Э. А. Изменения поверхностного фенотипа эндотелиальных клеток под влиянием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов / Э. А. Старикова, Е. И. Амчиславский, Д. И. Соколов и др. // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5. - № 1-2. – С.39-48.
143. Степченко, А. А. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у больных язвенной болезнью, ассоциированной с *Helicobacter pylori* / А. А. Степченко // Рос. мед.-биол. вестн. им. Акад. И. П. Павлова. – 2009. – № 1. – С. 39-46.
144. Тец, В. В. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / В. В.Тец. - М.: Медицина, 2002. - 352 с.
145. Фадеенко, Г. Д. Инфекция *Helicobacter pylori*: итоги 20-летнего изучения ее патогенности / Г. Д. Фадеенко // Вестник Харьковского нац. универс. - 2004. — № 614. — С. 115-119.
146. Фрейдлин, И. С. Иммунная система и ее дефекты: Руководство для врачей / И. С. Фрейдлин. – НТФФ Полисан, г. Санкт-Петербург – 1998. – 113 с.
147. Хаитов, Р. М. Иммунная система желудочно-кишечного тракта: особенности строения и функционирования в норме и патологии / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 1997. - № 5. - С. 4 - 7.
148. Хомерики, С. Г. Роль *Helicobacter pylori* в механизмах развития окислительного стресса в слизистой оболочке желудка / С. Г. Хомерики // Альманах клинической медицины. – 2006. - № 14. - С. 135 – 143.
149. Хомерики, С. Г. Роль кокковых форм *Helicobacter pylori* в патогенетических механизмах и персистенции хеликобактерной инфекции / С. Г. Хомерики, И. А. Морозов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2001. - № 11 (2). - Прил. 13. – С. 99– 102.
150. Царегородцева, Т. М. Цитокины в гастроэнтерологии / Т. М. Царегородцева, Т. И. Серова. М.: Анархис, 2003. - 96 с.
151. Цуканов, В. В. Эпидемиология язвенной болезни (монография) / В. В. Цуканов, О. В. Штыгашева, С. В. Баркалов. - Красноярск: Сибирь, 2004. - 198 с.

152. Цуканов, В. В. Распространенность *CagA*-позитивных штаммов *Helicobacter pylori* и язвенной болезни в популяции Восточной Сибири / В. В. Цуканов, С. В. Баркалов, Ю. Л. Тонких и др. // Терапевтический архив. - 2007. - № 79. (2). – С.15–18.
153. Черешнев, В. А. Иммунологические механизмы локального воспаления / В. А. Черешнев, М. В. Черешнева // Медицинская иммунология. - 2011. - Т. 13. - № 6. - С. 557 - 568.
154. Шкитин, В. А. Роль *Helicobacter pylori* в патологии человека / В. А. Шкитин // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2002 . – Т.4. - № 2. – С.128-145.
155. Штыгашева, О. В. Ассоциация *cag A* и *vac A* штаммов *Helicobacter pylori* и язвенной болезни в организованной популяции г. Абакана / О. В. Штыгашева, В. В. Цуканов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2004. – Т. 14. - № 2. – С. 84–87.
156. Штыгашева, О. В. Гены и болезни хакасов / О. В. Штыгашева, Е. С. Агеева, В. Н. Харьков и др. - Красноярск: Поликор, 2010. - 296 с.
157. Штыгашева, О. В. Роль иммунорегуляторных цитокинов в патогенезе хронического гастрита и язвенной болезни, поиск предикторов заболеваний / О. В. Штыгашева, Е. С. Агеева, В. М. Иптышев // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 88-90.
158. Шургина, И. С. Инфекция *Helicobacter pylori*: современный взгляд на проблему / И. С. Шургина, А. Н. Гуляев // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2007. – Вып. 4. - С.29-38.
159. Щербак, В. А. Значение цитокинов в патогенезе хронического гастродуоденита, ассоциированного с *H. Pylori*, у детей / В. А. Щербак, Ю. А. Витковский // Педиатрия. Журнал имени Г. Н. Сперанского. – 2005. – № 5. – С. 11–13.
160. Ющук, Н. Д. Иммунный ответ при инфекции, вызванной *Helicobacter pylori* / Н. Д. Ющук, И. В. Маев, К. Г. Гуревич // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2003. - № 6. -С. 86—91.

161. Ющук, Н. И. Инфекция *Helicobacter pylori* / Н. И. Ющук, В. Т. Ивашкин, И. В. Маев // Мед. Газета. - 2006. — № 40. — С. 8-9.
162. Ярилин, А. А. Иммунология / А. А. Ярилин. - М.: ГЭОТАР Медиа, 2010. - 752с.
163. Adamu, M. A. Incidence and risk factors for the development of chronic atrophic gastritis: five year follow up of a population based cohort study / M. A. Adamu, M. N. Weck, D. Rothenbacher, et.al. // *Int. J. Cancer.* — 2011. — Vol. 128.— P. 1652—1658.
164. Alakkari, A. *Helicobacter pylori* and Nonmalignant Diseases / A. Alakkari, A. Zullo, H.J. O'Connor // *Helicobacter.* – 2011. – Vol. 16. Suppl. 1. – P.33-37.
165. Alm, R. A. Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori* / R. A. Alm, L.-S. L. Ling, D. T. Moir et al. // *Nature.* – 1999. - Vol. 397 (6715). – P. 176 - 180.
166. Appelmelk, B. J. Phase variation in H type 1 and Lewis a epitopes of *Helicobacter pylori* lipopolysacchande / B. J. Appelmelk, M. C. Martino, E. Veenhof et al. // *Infect Immun.* – 2000. - Vol. 68. – P. 592832.
167. Arend, W. P. Biological role of interleukin 1 receptor antagonist isoforms / W. P. Arend, C. J. Guthridge // *Ann. Rheum. Dis.* – 2000. – Vol. 59. – Suppl. 1. – P. i60–i64.
168. Atherton, J. C. The clinical relevance of strain types of *Helicobacter pylori* / J. C. Atherton // *Gut.* – 1997. - Vol. 40 (6). – P. 701—703.
169. Audibert, C. Implication of the structure of the *Helicobacter pylori* Cagpathogenicity island in induction of interleukin-8 secretion / C. Audibert, C. Burucoa, B. Janvier // *Infect. Immunol.* – 2001. – Vol. 69 (3). – P. 1625–1629.
170. Bachmann, M. F. Interleukin 2: from immunostimulation to immunoregulation and back again / M. F. Bachmann, A. Oxenius // *EMBO Rep.* – 2007. – Vol. 8. – № 12. – P. 1142–1148.
171. Backhed, F. Gastric mucosal recognition of *Helicobacter pylori* is independent of Toll-like receptor 4 / F. Backhed, B. Rokbi, E. Torstensson, et al. // *J Infect Dis.* - 2003. - Vol. 187. - № 5. - P. 829-836.

172. Baldwin, D. N. Identification of *Helicobacter pylori* genes that contribute to stomach colonization / D. N. Baldwin, B. Shepherd, P. Kraemer // *Infection and Immunity*. – 2007. - Vol. 75. - № 2. – P. 1005–1016.
173. Banic, M. Extragastric manifestations of *Helicobacter pylori* infection / M. Banic, F. Franceschi, Z. Banić et al // *Helicobacter*. – 2012. - Vol. 17 (Suppl. 1). - P. 49—55.
174. Basso, D. *Helicobacter pylori* infection enhances mucosal interleukin-1 beta, interleukin-6, and the soluble receptor of interleukin-2 / D. Basso, M. Scringer, A. Toma, et al. // *Int. J. Clin. Lab. Res.* – 1996. - Vol. 26. – P. 207 – 210.
175. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* / Editor-in-Chief: George M. Garrity. — 2nd Edition. — New York, 2005. — T. The Proteobacteria. — P. 1169—1189.
176. Birkholz, S. Decreased *Helicobacter pylori*-specific gastric secretory IgA antibodies in infected patients / S. Birkholz, T. Schneider, U. Knipp et al. // *Digestion*. – 1998. – Vol. 59. - № 6. – P. 638–645.
177. Bizzozero, G. Uber die Schlauchformen drazen des magendarmkanalis und die beziehungen ihres epithelis zu dem oberflachenepithel der shleimhaut / G. Bizzozero // *Arch.Mikr.Anat.* – 1893. – Vol. 42. – P. 82 - 125.
178. Blaser, M. J. *Helicobacter pylori* and gastric diseases / M. J. Blaser // *BMJ*. – 1998. – Vol. 316. – P. 1507 - 1510.
179. Bodger, K. Gastric mucosal secretion of interleukin-10: relations to histopathology, *Helicobacter pylori* status, and tumor necrosis factor-alpha secretion / K. Bodger, J. I. Wyatt, R. V. Heatley // *Gut*. – 1997. - Vol. 40. – P. 739 – 744.
180. Chen, Y. Analysis on the mechanism of *Helicobacter pylori*-induced apoptosis in gastric cancer cell line BGC-823 / Y. Chen, Y. Wang, W. Xu, Z. Zhang // *Int. J. Mol. Med.*— 2005.— Vol. 1.—P. 741—745.
181. Correa, P. The biological model of gastric carcinogenesis / P. Correa // *IARC Sci Publ.*— 2004.— Vol. (157).— P. 301—310.
182. Crabtree, J. Interleukin-8 expression in *Helicobacter pylori* infected, normal, and neoplastic gastroduodenal mucosa / J. Crabtree, J. Wyatt, L. Trejdosiewicz, et al. // *J. Clin. Path.* – 1994. - Vol. 47. P. 61 – 66.

183. D'Ellios, M.M. Helicobacter pylori Inflammation, Immunity, and Vaccines / M.M. D'Ellios, L.P. Anderson // Helicobacter. - 2007. - V. 12 (1). - P. 15—19.
184. Dinarello, C. A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family / C. A. Dinarello // Ann Rev Immunol. – 2009. - Vol. 27. – P. 519–50.
185. Dixon, M. Classification and grading of gastritis / M. Dixon, R. Genta, J. Yardley, et al. // Am J Surg Pathol. – 1996. - Vol. 20. – P. 1161–1181.
186. Doenges, J. L. Spirochaetes in the gas tric glands of macacus resus and humans without definite history of related disease / J. L. Doenges // Proc.Soc.Exp.Med.Biol. – 1938. – Vol. 38. P. 536-538.
187. Drumm, B. Intrafamilial clustering of Helicobacter pylori infection / B. Drumm, G. I. Perez-Perez, M. J. Blaser, P. M. Sherman // N. Engl. J. Med. – 1990. – Vol. 322. – P. 359–363.
188. Dubreuil, J. D. Helicobacter pylori interactions with host serum and extracellular matrix proteins: potential role in the infectious process / J. D. Dubreuil, G.D. Giudice, R. Rappuoli // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2002. - Vol. 66. – P. 617-629,
189. El-Omar, E. M. The importance of interleukin 1beta in Helicobacter pylori associated disease / E. M. El-Omar // Gut. – 2001. – Vol. 48. – P. 743–747.
190. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects: world medical association declaration. Helsinki, 1964.
191. Etolhi, G. Relationship between mucosal levels of Helicobacter pylori – specific IgA, interleukin-8 and gastric inflamation / G. Etolhi, J.B. Dawodu, C.S. Gemmell et al. // Clin. Sci. – 1999. – Vol. 96. - № 4. – P. 409–414.
192. Fischer, W. Systematic mutagenesis of the Helicobacter pylori cag pathogenicity island: essential genes for CagA translocation in host cells and induction of interleukin-8 / W. Fischer, J. Puls, R. Buhrdorf, et al. // Molecular Microbiology. – 2001. – Vol. 42. – P. 1337–1348.
193. Ford, A. C. Epidemiology of Helicobacter pylori infection and public health implications / A. C. Ford, A. T. Axon // Helicobacter. – 2010. – Vol. 15 (suppl. 1). – P. 1–6.

194. Forman, D. *Helicobacter pylori*: the gastric cancer problem / D. Forman. – Gut. – 1998. - Vol. 43. - Suppl 1. – P. S33—S34.
195. Freedberg, A. S. The presence of spirochetes in human gastric mucosa / A. S. Freedberg, L. E. Barron // *Am.J.Dig.Dis.* – 1940. – Vol. 7. – P. 443-445.
196. Gabay, C. IL-1 pathways in inflammation and human diseases / C. Gabay, C. Lamacchia, G. Palmer // *Nat Rev Rheumatol.* - 2010. - Vol. 6. - P. 232 – 241.
197. Garrity, G. M. Class V. Epsilonproteobacteria fam. nov. / G.M. Garrity, J. A. Bell, T. Lilburn. - 2nd ed. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* - New York: Williams & Wilkins, 2005. – P. 1145–1194.
198. Genta, R. M. The Sydney system revised / R. M. Genta, M. F. Dixon // *Am. J. Gastroenterol.* — 1995. — Vol. 90.— P. 1039—1041.
199. Go, M. F. Natural History and Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection / M. F. Go // *Aliment. Pharmacol. Ther.* - 2002. - Vol. 16, suppl 1. – P. 3-15.
200. Goll, R. Increased frequency of antral CD4+ T and CD19+ B cells in patients with *Helicobacter pylori*-related peptic ulcer disease / R. Goll, A. Husebekky, V. Isaksenz et al. // *Scand. J. Immunol.* — 2005. — Vol. 61. — P. 92—97.
201. Goodwin, C. S. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen.nov. as *Helicobacter pylori* comb. Nov and *Helicobacter mustelae* comb. Nov, respectively / C. S. Goodwin, J. A. Armstrong et al. // *Int.J.Syst.Bacteriol.* – 1989. – Vol. 39 . – P. 397–405.
202. Gyulai, Z. Genetic polymorphism of interleukin-8 (IL-8) is associated with *Helicobacter pylori*-induced duodenal ulcer / Z. Gyulai, G. Klausz, A. Tiszai, et al. // *Eur. Cytokine Network.* – 2004. – Vol. 15 (4). – P. 353–358.
203. Habeed, M. A. Role of H. Pylori flagellar genes ( FlaA and FlaB) in colonization and pathogenesis / M. A. Habeed, M. A. Alvi, Khan A. A. et al. // *Amer. J. Gastroenterol.* 2001. - Vol. 96. - № 9. - P. 556.
204. *Helicobacter and Cancer Collaborative Group.* Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested with prospective cohorts // *Gut.*— 2001.— Vol. 49.— P. 347—353.

205. Hoffmann, S. C. Association of cytokine polymorphic inheritance and in vitro cytokine production in anti-CD3/CD28-stimulated peripheral blood lymphocytes / S. C. Hoffmann, E. M. Stanley, E. Darrin Cox, et. al. // *Transplantation*. – 2001. – Vol. 72. – P. 1444–1450.
206. Hofner, P. Genetic polymorphisms of NOD1 and IL-8, but not polymorphisms of TLR4 genes, are associated with *Helicobacter pylori*-induced duodenal ulcer and gastritis / P. Hofner, Z. Gyulai, Z.F. Kiss // *Helicobacter*. – 2007. – Vol. 12. - № 2. – P. 124–131.
207. Huang, X. Iron deficiency anaemia can be improved after eradication of *Helicobacter pylori* / X. Huang, X. Qu, W. Yan et al. // *Postgrad. Med. J.* – 2010. – Vol. 86. - № 1015. – P. 272–278.
208. Hunt, R. H. *Helicobacter Pylori* in developing countries. World Gastroenterology Organisation Global Guideline / R. H. Hunt, S. D. Xiao, F. Megraud et al. // *J. Gastrointest. Liver Dis.*— 2011.—Vol. 20, N 3.— P. 299—304.
209. Ikenoue, T. Determination of *Helicobacter pylori* Virulence by Simple Gene Analysis of the *cag* Pathogenicity Island / T. Ikenoue, S. Maeda, K. Ogura et. al. // *Clin. Diag. lab. Immunol.* – 2001. – Vol. 8. - № 1. – P. 181–186.
210. Innocenti, M. *Helicobacter pylori*-induced activation of human endothelial cells / Innocenti M., Thoreson A. C., Ferrero R. L., et al. // *Inf. Immunity*. - 2002. - Vol. 70. - № 8. - P. 4581–4590.
211. Itoh, T. The vast majority of gastric T cells are polarized to produce T helper 1 type cytokines upon antigenic stimulation despite the absence of *Helicobacter pylori* infection / T. Itoh, Y. Wakatsuki, M. Yoshida et al. // *J. Gastroenterol.* — 1999. — Vol. 34. — P. 560—570.
212. Jafarzadeh A. The association between infection burden in Iranian patients with acute myocardial infarction and unstable angina / A. Jafarzadeh, M. Nemati, M. Tahmasbi et al. // *Acta Med. Indones.* – 2011. - Vol. 43 (2). - P. 105 — 111.
213. Jaheway, C. A. *Immunology: The immune system in health and disease* / C. A. Jaheway, P. Travers. Publishing Inc, 1996. - Second ed.- 235 p.
214. Juge-Aubry, C. E. Regulatory effects of interleukin (IL)-1, interferon beta, and IL-4 on the production of IL-1 receptor antagonist by human adipose tissue / C. E. Juge-

- Aubry, E. Somm et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 89. – № 6. – P. 2652–2658.
215. Jung, M. Expression profiling of IL-10-regulated genes in human monocytes and peripheral blood mononuclear cells from psoriatic patients during IL-10 therapy / M. Jung, R. Sabat, J. Kratzschmar et al. // *Eur. J. Immunol.* - 2004. - Vol. 34. - P. 481—493.
216. Karttunen, T. J. Blood leukocyte differential in *Helicobacter pylori* infection / T. J. Karttunen, S. Niemela, T. Kerola // *Digestive Diseases and Sciences.* – 1996. - Vol. 41. - № 7. – P. 1332–1336.
217. Katagiri, M. Increased cytokine production by gastric mucosa in patients with *Helicobacter pylori* infection / M. Katagiri, M. Asaka, M. Kobayashi, et al. // *J. Clin. Gastroenterol.* – 1997. - Vol. 25, Suppl. 1. – P. S211-214.
218. Keates, S. Differential activation of mitogen-activated protein kinases in AGS gastric epithelial cells by cag+ and cag– *Helicobacter pylori* / S. Keates, A.C. Keates, M. Warny et al. // *J. Immunol.* – 1999. – Vol. 163. – P. 5552–5559.
219. Kidd, P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease / P. Kidd // *Altern. Med. Rev.* - 2003. - Vol. 8 (3). - P. 223–246.
220. Kirchner, T. Immunopathology of *Helicobacter pylori* Gastritis / T. Kirchner, H. Steininger, G. Faller // *Digestion.* - 1997. - Vol. 58 (Suppl 1). – P. 14 - 16.
221. Kondo, Y. *Helicobacter pylori* eradication decreases blood neutrophil and monocyte counts / Y. Kondo, T. Joh, M. Sasaki et al. // *Alimentary Pharmacology and Therapeutics, Supplement.* – 2004. - Vol. 20. - № 1. – P. 74–79.
222. Konturek, P.C. *Helicobacter pylori* infection in gastric cancerogenesis / P.C. Konturek, S.J. Konturek, T. Brzozowski // *J. Physiol. Pharmacol.* — 2009. — Vol. 60. - P. 3 - 21.
223. Kountouras, J. A potential impact of chronic *Helicobacter pylori* infection on Alzheimer’s disease patho-biology and course / J. Kountouras, M. Boziki, C. Zavos, et al // *Neurobiol. Aging.* – 2012. - Vol. 33 (7). - P. 3 — 4.
224. Kountouras, J. *Helicobacter pylori* may play an important role in both axonal type Guillain-Barré syndrome and acute inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy



- / J. Kountouras, C. Zavos, G. Deretzi et al // Clin. Neurol. Neurosurg. – 2011. - Vol. 113 (6). - P. 520.
225. Krienitz, W. Uber das Auftreten von spirochetten vershiedener form im Mageninhalt bei Carcinoma Ventriculi / Krienitz W. // Dtsch.med.Wschr. – 1906 .- Vol. 22. – P. 872-882.
226. Kusters, J. G. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection / J. G. Kusters, A. H. M. van Vliet, E. J. Kuipers // Clin Microbiol Rev. - 2006. - Vol. 19. – P. 449 - 490.
227. Laine, M. L. The Mouthwash: A Non-Invasive Sampling Method to Study Cytokine Gene Polymorphisms / M. L. Laine, M. A. Farre, J. B. Crusius et. al. // Periodontol. – 2000. – Vol.71. - №8. - P. – 1315-1318.
228. Linden, S. Role of ABO secretor status in mucosal innate immunity and H. pylori infection / S. Linden, J. Mahdavi, C. SeminoMora, et. al. // PLoS. Pathog. – 2008. - Vol. 4. – P. e 2-9.
229. Lohoff, M. Helicobacter pylori gastritis: a Th1 mediated disease / M. Lohoff, M. Rollinghoff, F. Sommer // J. Biotechnol. - 2000. - V. 83. - P. 33 — 63.
230. Lu, W. Genetic polymorphisms of interleukin (IL)<sub>1</sub> $\beta$ , IL-1RN, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor alpha and risk of gastric cancer in a Chinese population / W. Lu, K. Pan, L. Zhang et al. // Carcinogenesis. – 2005. – Vol. 26. – P. 631–636.
231. Luzzza, F. Expression of proinflammatory and Th1 but not Th2 cytokines is enhanced in gastric mucosa of Helicobacter pylori infected children / F. Luzzza, T. Parrello, L. Sebkova et al. // Dig. Liver Dis. — 2001. — Vol. 33. — P. 14—20.
232. Lopez-Vidal, Y. High Diversity of vacA and cagA Helicobacter pylori Genotypes in Patients with and without Gastric Cancer / Y. Lopez-Vidal, S. Ponce-de-Leon, G. Castillo-Rojas, et al. // PLoS ONE. — 2008. — T. 3. — № 12. — C.-e3849.
233. Lyke, K.E. Serum levels of the proinflammatory cytokines interleukin-1 beta (IL-1beta), IL-6, IL-8, IL-10, tumor necrosis factor alpha, and IL-12 (p 70) in Malian children with severe Plasmodium falciparum malaria and matched uncomplicated malaria or healthy controls / K.E. Lyke, R. Burjes, Y. Cissoko // Infect Immun. – 2004. – Vol. 72(10). – P. 5630-5637.

234. Makristathis, A. Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay / A. Makristathis, E. Pasching, Schutrek, et al // *J of Clin Microb.* - 1998. - Vol 36. - № 9. – P. 2772.-.2774.
235. Marshall, B. *Helicobacter pylori*: 20 years on / B. Marshall // *Clinical Medicine.* – 2002. - Vol 2. - №2. - P.147-152.
236. Marshall, B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis / B. Marshall // *Lancet.* – 1983. - Vol. 1. – P. 12731—12734.
237. McHugh, M. L. The odds ratio: calculation, usage, and interpretation *The Biochemia Medica* / M. L. McHugh // *The journal of Croatian Society of Medical Biochemists.* – 2009. – Vol.19 (2). – P. 120–126.
238. Meyer, F. Modulation of Innate Cytokine Responses by Productions of *Helicobacter pylori* / F. Meyer, K. T. Wilson, S. P. James // *Infection and Immunity.* - 2000. - V. 68. - № 11. - P. 6265—6272.
239. Mobley, H. L. Defining *Helicobacter pylori* as a pathogen: strain heterogeneity and virulence / H. L. Mobley // *Am J Med.* – 1996. - Vol. 100 (5A). – P. 2S—11S.
240. Mobley, H. L. The role of *Helicobacter pylori* urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration / H. L. Mobley // *Alim Pharmacol Ther.* – 1996. - Vol. 10. -Suppl 1. – P. 57 - 64.
241. Morris, S. C. Endogenously produced IL-4 nonredundantly stimulates CD8+ T cell proliferation / S. C. Morris, M. H. Stephani, R. H. DeBroski et al. // *J. Immunol.* -2009. - Vol. 182. - P. 1429 — 1438.
242. Mosser, D. M. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine / D. M. Mosser, X. Zhang // *Immunol. Rev.* – 2008. – Vol. 226. – P. 205–218.
243. Muller, A. *H. pylori* exploits and manipulates innate and adaptive immune cell signaling pathways to establish persistent infection / A. Muller, M. Oertli, I. C Arnold // *Cell Communication and Signaling.* - 2011. - Vol. 9. – P. 25
244. Nawfal, R. H. Differences in Virulence Markers between *Helicobacter pylori* Strains from Iraq and Those from Iran: Potential Importance of Regional Differences in *H. pylori*-Associated Disease / R. H. Nawfal, M. Mohammadi, Y. Talebkhan, et al. // *Journal of Clinical Microbiology.* — 2008. — T. 46. — № 5. — C. 1774 — 1779.

245. Nogueira, C. Helicobacter pylori Genotypes May Determine Gastric Histopathology / C. Nogueira, C. Figueiredo, F. Carneiro et al. // Amer. J. Pathol. – 2001. – Vol. 158. - № 2. – P. 647–654.
246. Normark, S. Persistent infection with Helicobacter pylori and the development of gastric cancer / Normark S., Nilsson C., Normark B.H., et. al. // Adv. Cancer Res. – 2003. – Vol. 90. – P. 63–89.
247. Ohyauchi, M. The polymorphism interleukin 8 –251A/T influences the susceptibility of Helicobacter pylori related gastric diseases in the Japanese population / M. Ohyauchi, A. Imatani, M. Yonechi et al. // Gut. – 2005. – Vol. 54. – P. 330–335.
248. Palmer, E. D. Investigation of the gastric mucosa spirochetes of the human / E. D. Palmer // Gastroenterol. – 1954. – Vol. 27. – P. 218-220.
249. Papa, A. Role of Helicobacter pylori CagA+ infection in determining oxidative DNA damage in gastric mucosa / A. Papa, S. Danese, A. Sgambato et al. // Scand. J. Gastroenterol.— 2002.— Vol. 37 (4). — P. 409 — 413.
250. Parsonnet, J. Helicobacter pylori: the size of the problem / J. Parsonnet // Gut. - 1998. - Vol. 43. – P. S6–S9.
251. Peek, R. M. Helicobacter pylori cagA+ strains and dissociation of gastric epithelial cell proliferation from apoptosis / R. M. Peek, S. F. Moss, K. T. Tham et al. // J. Natl. Cancer Inst. – 1997. – Vol. 89. - № 12. – P. 863 – 868.
252. Peek, R. M. Adherence to gastric epithelial cells induce expression of a Helicobacter pylori gene, *iseA*, that is associated with clinical outcome / R. M. Peek, S. A. Thomppson, J. P. Donahue, et al. // Proc. Assoc. Am. Physicians. - 1998. - Vol. 110(b) . – P. 531 - 544.
253. Peura, D. A. Helicobacter pylori // Sleisenger & Fordtran's gastrointestinal and liver disease / Eds. M. Feldman, L.S. Friedman, L.J. Brandt. – 9th ed. – Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2010: chap 50.
254. Piazuolo, M. B. Eosinophils and mast cells in chronic gastritis: possible implications in carcinogenesis / M. B. Piazuolo, M. C. Camargo, R. M. Mera et al. // Hum. Pathol. - 2008. - Vol. 39 (9). - P. 1360–1369).

255. Piotrowski, J. Induction of acute gastritis and epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide / J. Piotrowski, E. Piotrowski, D. Skrodzka, et al. // *Scandinavian J Gastroenterol.* - 1997. - Vol. 32. - P. 203 – 211.
256. Portal-Celhay, C. Immune responses to *Helicobacter pylori* colonization: mechanisms and clinical outcomes / C. Portal-Celhay, G.I. Perez-Perez // *Clin. Sci. (Colch).* – 2006. – Vol. 110. - № 3. – P. 305–314.
257. Quiding-Jarbrink, M. CD 4+ and CD 8+ T cell responses in *Helicobacter pylori* infected individuals / M. Quiding-Jarbrink, B. S. Lundin, H. Lö nroth, A.-M. Svennerholm // *Clin. Exp. Immunol.*— 2001.— Vol. 123.—P. 81–87.
258. Rad, R. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonisation during *Helicobacter pylori* infection / R. Rad, A. Dossumbekova, B. Neu, et. al. // *Gut.* – 2004. – Vol. 53. – P. 1082–1089.
259. Ramirez-Mendoza, P. Evaluation of Gastric Atrophy. Comparison between Sidney and OLGA Systems / P. Ramirez-Mendoza, J. Gonzalez-Angulo, et al. // *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* — 2008. - Vol. 46. - P. 135- 139.
260. Richard, W. Superoxide dismutase-deficient mutant of *Helicobacter pylori* are hypersensitive to oxidative stress and defective in host colonization / W. Richard, R. W. Seyler, J. W. Olson, et. al. // *Inf. Immun.* — 2001.— Vol. 69 (6). — P. 4034–4040.
261. Rosenow, E. S. The bacteriology of ulcer of the stomach and duodenum in men / E. S. Rosenow; A. N. Sanford // *J. Inf. Dis.* - 1915. - Vol. 17. - P.210.
262. Rugge, M. Gastritis OLGA-staging and gastric cancer risk: a twelve-year clinicopathological follow-up study / M. Rugge, M. De Boni, G. Pennelli et al. // *Aliment. Pharmacol. Ther.* — 2010. - Vol. 31. - P. 1104–1111.
263. Rugge, M. OLGA staging for gastritis: a tutorial / M. Rugge, P. Correa, F. Di Mario // *Dig Liver Dis.* — 2008. - Vol. 40 (8). — P. 650-658.
264. Satoh, Y. Clinical significance of peripheral blood T lymphocyte subsets in *Helicobacter pylori*-infected patients / Y. Satoh, H. Ogawara, O. Kawamura, et al. // *Gastroenterology Research and Practice.* - 2012. - Article ID. – P. 819-842.
265. Schmausser, B. Expression and subcellular distribution of toll-like receptors TLR4, TLR5 and TLR9 on the gastric epithelium in *Helicobacter pylori* infection / B.

- Schmausser, M. Andrulis, S. Endrich et al. // *Clin. Exp. Immunol.* - 2004. - Vol. 136. - № 3. - P. 521–526.
266. Schweinitzer, T. Functional Characterization and Mutagenesis of the Proposed Behavioral Sensor TlpD of *Helicobacter pylori* / T. Schweinitzer, T. Mizote, N. Ishikawa, et al. // *Journal of Bacteriology.* — 2008. — Vol. 190. — № 9. — P. 3244 — 3255.
267. Shiotani, A. Evidence that loss of sonic hedgehog is an indicator of *Helicobacter pylori*-induced atrophic gastritis progressing to gastric cancer / A. Shiotani, H. Iishi, N. Uedo, et al. // *Am. J. Gastroenterol.* — 2005. — Vol. 100. — P. 581 — 587.
268. Sonnenberg, A. Review article: historic changes of *Helicobacter pylori*-associated diseases / A. Sonnenberg // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2013. - Vol. 38. – P. 329-342.
269. Starzynska, T. *Helicobacter* and digestive malignancies / T. Starzynska, P. Malfertheiner // *Helicobacter.* — 2006.— Vol. 11.— P. 32—35.
270. Stasi, R. Effects of eradication of *Helicobacter pylori* infection in patients with immune thrombocytopenic purpura: a systematic review / R. Stasi, A. Sarpatwari, J.B. Segal et al. // *Blood.* – 2009. – Vol. 113, - № 6. – P. 1231– 1240.
271. Steer, H. Ultrastructure of cell migration through the gastric epithelium and its relationship to bacteria / H. Steer // *Clin. Pathol.* – 1975. - Vol. 28. – P. 639 — 646.
272. Suerbaum, S. *Helicobacter pylori* infection / S. Suerbaum, P. Michetti // *N Engl J Med.* – 2002. - Vol. 347. – P. 1175-1186.
273. Taguchi, A. Interleukin-8 promoter polymorphism increases the risk of atrophic gastritis and gastric cancer in Japan / A. Taguchi, N. Ohmiya, K. Shirai et al. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2005. – Vol. 14. – P. 2487–2493.
274. Thanos, D. NF- $\kappa$ B: a lesson in family values / D. Thanos, T. Maniatis // *Cell.* - 1995. - Vol. 80. - P. 529–532.
275. Tonkic, A. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection / A. Tonkic, M. Tonkic, P. Lehours, et al. // *Helicobacter.* – 2012. – Vol. 17 (suppl. 1). – P. 1–8.
276. Vandamme, P. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* Taxonomy: Emendation of Generic Descriptions and Proposal of *Arcobacter* gen. nov. /

- P. Vandamme, E. Falsen, R. Rossau, et al. // *International Journal of Systematic Bacteriology*. — 1991. — T. 41. — № 1. — C. 88—103.
277. Vandenplas, Y. *Helicobacter pylori* infection / Y. Vandenplas // *World Journal of Gastroenterology*. — 2000. - Vol. 6. - № 1. — P. 20 – 31.
278. Veijola, L. I. Association of autoimmune type atrophic corpus gastritis with *H. pylori* infection / L. I. Veijola, A. M. Oksanen, P. I. Sipponen // *World J. Gastroenterol.* — 2010. — Vol. 16 (1). — P. 83—88.
279. Vorobjova, T. CagA protein seropositivity in a random sample of adult population and gastric cancer patients in Estonia / T. Vorobjova, I. Nilsson, K. Kull et al. // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* - 1998. - Vol. 10. — P. 41–46.
280. Watari, J. *Helicobacter pylori* associated chronic gastritis, clinical syndromes, precancerous lesions, and pathogenesis of gastric cancer development / J. Watari, N. Chen, P. S Amenta, et.al. // *World J Gastroenterol.* — 2014. - Vol. 20(18). — P. 5461-5473.
281. Webb, P. M. The Eurogast Study Group. Gastric cancer, cytotoxin-associated gene A-positive *Helicobacter pylori*, and serum pepsinogens: an international study / P. M. Webb, J. E. Crabtree, D. Forman // *Gastroenterology*. - 1999. - Vol. 116. — P. 269–276.
282. Weichert, W. Association of patterns of class I histone deacetylase expression with patient prognosis in gastric cancer: a retrospective analysis / W. Weichert, A. Roske, V. Gekeler et al. // *Lancet. — Oncol.*— 2008.— Vol. 9 (2).— P. 139—148.
283. Wessler, S. Molecular mechanisms of epithelial-barrier disruption by *Helicobacter pylori* / S. Wessler, S. Backert // *Trends Microbiol.* — 2008. - Vol. 16. P. 397-405.
284. Whary, M. T. Natural and Experimental *Helicobacter* Infections / M.T. Whary, J.G. Fox. // *Comparative Medicine. Overview.* — 2004. — Vol. 54. - № 2. — P. 128.
285. Wilson, K. T. Immunology of *Helicobacter pylori*: insights into the failure of the immune response and perspectives on vaccine studies / K. T. Wilson, J. E. Crabtree // *Gastroenterology*. — 2007. — Vol. 133. — P. 288–308.
286. Wines, B. D. IgA receptors in health and disease / B. D. Wines, P. M. Hogarth // *Tissue Antigens*. — 2006. — Vol. 68. - № 2. — P. 103–114.

287. Witkowska, A. M. On the role of sIL-2R measurements in rheumatoid arthritis and cancers / A. M. Witkowska // *Mediators Inflamm.* – 2005. – Vol. 2005. – № 3. – P. 121–130.
288. Yamazaki, S. Distinct Diversity of *vacA*, *cagA*, and *cagE* Genes of *Helicobacter pylori* Associated with Peptic Ulcer in Japan / Yamazaki S., Yamakawa A., Okuda T., et al. // *Journal of Clinical Microbiology.* — 2005. — T. 43. — № 8. — C. 3906 — 3916.
289. Ye, B. D. The interleukin-8-251 A allele is associated with increased risk of noncardia gastric adenocarcinoma in *Helicobacter pylori*-infected Koreans / B. D. Ye, S. G. Kim, J. H. Park, et al. // *J. Clin. Gastroenterology.* – 2009. – Vol. 43 (3). – P. 233–239.
290. Yun, C. H. Natural killer cells and *Helicobacter pylori* infection: bacterial antigens and interleukin-12 act synergistically to induce gamma interferon production / C. H. Yun, A. Lundgren, J. Azem et al. // *Infect. Immun.* – 2005. – Vol. 73. - № 3. – P. 1482 – 1490.
291. Zambon, C. F., *Helicobacter pylori* *babA2*, *cagA*, and *s1 vacA* genes work synergistically in causing intestinal metaplasia / C. F. Zambon, F. Navaglia, D. Basso, M. Rugge, M. Plebani // *Journal of Clinical Pathology.* — 2003. — T. 56. — № 4. — C. 287 — 291.