

На правах рукописи

Капкаева Регина Харисовна

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ИММУНОДИАГНОСТИКА *HELICOBACTER PYLORI*-  
АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ЗОНЫ

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

АВТОРЕФЕРАТ  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва – 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва», на кафедре иммунологии, микробиологии и вирусологии

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва»  
**Матвеева Любовь Васильевна**

**Официальные оппоненты:**

**Калюжин Олег Витальевич**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Нестерова Ирина Вадимовна**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры иммунологии и аллергологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов»

**Ведущая организация:**

федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.002 на базе ФГАОУ ВО РУДН по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 10/2.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РУДН (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6) и на сайте <http://dissovet.rudn.ru>.

Автореферат размещен на сайте <http://dissovet.rudn.ru>.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета ПДС 0300.002  
кандидат медицинских наук, доцент

**Баткаева Надежда Владимировна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Инфицированность населения *Helicobacter (H.) pylori* является общеглобальной проблемой, во всем мире составляет более 50% [Hirayama Y., 2014, Hollander W.J., 2014], выявляются значительная вариация между странами, различия по возрасту, расовой принадлежности и социально-экономическим характеристикам. Проведенный глобальный систематический обзор показал, что в 2015 г. около 4,4 миллиарда людей по всему миру были инфицированы *H. pylori*. Самая высокая распространенность отмечалась в Африке (79,1%), Латинской Америке и районе Карибского бассейна (63,4%), Азии (54,7%). Напротив, самая низкая распространенность *H. pylori* зафиксирована в Северной Америке (37,1%). Таким образом, распространенность *H. pylori* сокращается в промышленно развитых странах западного мира и остается на стабильно высоком уровне в развивающихся и новых индустриальных странах. Эти различия в распространенности, вероятно, отражают уровень урбанизации, санитарии, доступа к чистой воде и различный социально-экономический статус. Кроме того, существует значительная разница в распространенности *H. pylori* и в пределах одной страны [Morrison A., 2014, Shimoyama, T., 2012].

Колонизация *H. pylori* ткани желудка и двенадцатиперстной кишки способствует развитию хронического гастрита (ХГ), язвенной болезни (ЯБ), раку желудка [Креймер В.Д., 2011, Ford A.C., 2014, Long Y., 2013].

### Степень разработанности темы исследования

*H. pylori* является уникальным микроорганизмом, способным к длительной колонизации слизистой оболочки (СО) желудка, индукции воспалительного процесса, антигенной мимикрии [Балмасова И.П., 2018, Moran A.P., 2008, Pohl M.A., 2009] и иммунной эвазии. Белки жгутиков, адгезины, ферменты инвазивности и агрессивности, цитотоксин-ассоциированный протеин (CagA), вакуолизирующий цитотоксин могут оказывать повреждающее действие на эпителиоциты желудка [Поздеев О.К., 2018, Backert S., 2016, Carlsohn E., 2006, Celli J.P., 2009, Cover T.L., 2005, De Jonge R., 2004, Iunusova A.I., 2018, Oertli M., 2013, Radin J.N., 2013, Tabassam F.H., 2008]. Распознавание молекулярных паттернов *H. pylori* рецепторами клеток желудка инициирует активацию адаптерных белков, протеинкиназ и транскрипционных факторов [Bäckhed F., 2003, Lindgren A., 2011, Mahla R.S., 2013, Wang C., 2015], приводя к продукции провоспалительных цитокинов, инфильтрации нейтрофильными гранулоцитами [De Bernard M., 2010], поглощению и киллингу микроорганизмов фагоцитами с презентацией антигенов лимфоцитам [Amedei A., 2006], при этом активность и завершенность фагоцитоза остаются на низком уровне. Активация CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов сопровождается цитотоксическим действием как на *H. pylori*, так и на эпителиоциты слизистой желудка [Azem, J., 2006, Bagheri N., 2015, Kronsteiner B., 2014]. Слабая иммуногенность антигенов *H. pylori* ограничивает продукцию антихеликобактерных антител [Tang R. X., 2008]. Таким образом, активация иммунных факторов, в большинстве случаев, не приводит к полной элиминации патогена, но может усугублять патоморфологические изменения эпителия желудка и двенадцатиперстной кишки [Kim I. J., 2012, Wessler S., 2008].

Установлено [Степченко А. А., 2010], что сывороточные концентрации интерлейкина (IL)-1 $\beta$ , IL-8, интерферона (IFN)- $\gamma$ , туморнекротизирующего фактора (TNF)- $\alpha$ , противовоспалительного IL-4 у пациентов с высоко патогенным CagA<sup>+</sup>-штаммом *H. pylori* превышают уровни соответствующих цитокинов у пациентов с банальным штаммом *H. pylori* и у больных ЯБ, не ассоциированной с *H. pylori*. Показано, что *H. pylori*, активируя продукцию IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  нейтрофилами, моноцитами, усиливает Fas-опосредованный апоптоз эпителиоцитов, лимфоцитов и моноцитов; выявляется положительная корреляция между уреазной активностью *H. pylori* и выраженностью апоптоза клеток СО. Напротив, увеличение экспрессии IFN- $\gamma$  на клетках ингибирует апоптоз желудочного эпителия и уменьшает воспаление [Lindgren A., 2011].

Считается [Nyerere K., 2009], что угнетение продукции соляной кислоты IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  усиливает колонизацию *H. pylori* и способствует прогрессированию воспалительного процесса, атрофических изменений СО [Маев И.В., 2015].

Учитывая имеющиеся данные, установление корреляционных зависимостей иммунных изменений, морфофункциональных нарушений, степени контаминации СО *H. pylori* вызывает интерес в аспекте уточнения патогенетических механизмов развития ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки и разработки иммунодиагностических критериев.

**Цель исследования** – разработать алгоритм дифференциальной иммунодиагностики *H. pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваний путем анализа нарушений функционирования иммунной системы и сопоставления с морфофункциональными изменениями слизистых оболочек.

В процессе выполнения работы решались следующие **задачи**:

1. Изучить изменения факторов клеточного и гуморального звеньев иммунной системы с установлением особенностей при хроническом гастрите, язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки, ассоциированными с *Helicobacter pylori*.

2. Исследовать комплекс про- и противовоспалительных цитокинов сыворотки крови для уточнения их иммунодиагностической ценности при *Helicobacter pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваниях.

3. Оценить корреляционные взаимосвязи между иммунными изменениями, маркерами *Helicobacter pylori*-инфекции, морфофункциональными нарушениями при ХГ и ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки.

4. Разработать иммунодиагностические критерии *Helicobacter pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваний, прогностические модели осложненного течения хронического гастрита, язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки.

Работа выполнена в соответствии с планом работы Медицинского института ФГБОУВО «МГУ им. Н.П. Огарёва» по направлению «Медицинские основы жизнедеятельности организма в норме, патологии и эксперименте», по проблеме «Исследование иммунопатогенетических аспектов развития патологии желудка».

#### **Научная новизна**

1. Установлено превалирование сывороточных уровней провоспалительных цитокинов (IL-8, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), ростовых факторов (гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), IL-2) при обострении ЯБ, ассоциированной с *H. pylori*, над значениями показателей при ХГ и ЯБ, неассоциированными с *H. pylori*.

2. Впервые проведено сочетанное определение корреляционных связей иммунных факторов и маркеров хеликобактерной инфекции (степени контаминации СО *H. pylori*, титра суммарных антител (САТ) к CagA *H. pylori*) при хроническом гастрите и язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки.

3. Разработан и предложен способ иммунодиагностики заболеваний ГДЗ, включающий определение локализации и выраженности заболеваний по клиническим критериям и сывороточному уровню секреторного иммуноглобулина А (sIgA), пепсиногена (PG)-1, PG-2, титру САТ к CagA *H. pylori*.

4. Разработаны прогностические модели осложненного течения хронического гастрита, язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки на основе оценки количества сывороточных цитокинов и других иммунных факторов.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость работы состоит в расширении представления о взаимосвязи иммунных факторов, степени контаминации СО желудка и двенадцатиперстной кишки *H. pylori*, морфофункциональных изменений; в определении прогностической ценности ростовых факторов, провоспалительных цитокинов при осложнениях хронического гастрита, язвенной болезни.

Практическая значимость работы состоит в установлении иммунодиагностических и прогностических критериев хронического гастрита, язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки, что определяет улучшение их дифференциации:

- разработан и предложен способ иммунодиагностики заболеваний ГДЗ: наличие клинических критериев, положительный титр САТ к CagA *H. pylori*, сывороточные концентрации

sIgA 3,9 мг/л и более, PG-1 64,0 мкг/л и более, PG-2 4,0 мкг/л и более свидетельствуют об эрозивно-язвенных дефектах в желудке и двенадцатиперстной кишке; наличие клинических признаков, положительный титр САТ к СаgА *H. pylori*, сывороточные концентрации sIgA 3,1 мг/л и более, PG-1 в пределах нормы, PG-2 9,0 мкг/л и более свидетельствуют об эрозивно-язвенных дефектах в двенадцатиперстной кишке (патент РФ на изобретение №2677228 «Способ иммунодиагностики заболеваний гастродуоденальной зоны»).

Разработаны прогностические модели развития осложнений хронического гастрита, язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки (атрофия, ульцерация желудочного, кишечного эпителия, кровотечение) на основе оценки количества сывороточных цитокинов и других иммунных факторов.

#### **Методология и методы диссертационного исследования**

Методологической основой диссертационного исследования явилось использование эмпирических методов научного познания – наблюдение и анализ. У больных ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки системные иммунные изменения, маркеры *Helicobacter pylori*-инфекции, нарушения секреторной активности желудочных желез, морфологическая картина СО желудка и двенадцатиперстной кишки определяли с помощью инструментальных и лабораторных методов исследования. Математическую обработку результатов проводили с помощью современных методов вариационной статистики, корреляционного и регрессионного анализа.

#### **Положения диссертации, выносимые на защиту**

1. При *H. pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваниях развиваются дисрегуляторные процессы в клеточном и гуморальном звеньях иммунной системы, более выраженные при обострении ЯБ желудка.

2. При *H. pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваниях повышенная продукция провоспалительных цитокинов и ростовых факторов превосходит значения при *H. pylori*-неассоциированных ХГ, ЯБ.

3. Характер взаимосвязи иммунных изменений и степени контаминации СО *H. pylori* определяет морфофункциональные нарушения и течение ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки.

#### **Степень достоверности результатов**

Использование современных методов клиничко-лабораторного обследования и статистической обработки данных, обеспечивающих решение поставленных задач, определяют достоверность результатов диссертационного исследования. Сформулированные положения, выводы, практические рекомендации аргументированы и логически обоснованы.

#### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 25 научных работ, в том числе 2 статьи в журналах базы Scopus, 3 статьи и 6 тезисов в рецензируемых журналах из списка ВАК, получен 1 патент Российской Федерации на изобретение.

#### **Апробация результатов исследования**

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научно-практических конференциях Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарева «Огаревские чтения» (Саранск, 2015–2018), научных конференциях молодых ученых, аспирантов и студентов (Саранск, 2015–2019), I–III Всероссийских научно-практических конференциях «Актуальные проблемы медико-биологических дисциплин» (Саранск, 2012–2014), III Межрегиональном студенческом научном форуме «Актуальные проблемы медицинских наук» (Саранск, 2014), XVIII Международной медико-биологической конференции «Фундаментальная наука и клиническая медицина» (Санкт-Петербург, 2015, Межрегиональном форуме с международным участием «Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарные проблемы» (Пенза, 2016), XVI Всероссийском научном форуме с международным участием им. акад. В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2017).

Заключение об апробации диссертационной работы принято на заседании кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева», протокол №2 от 10 февраля 2020 г.

### **Внедрение результатов работы в практику**

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность клиничко-диагностической лаборатории, 1 хирургического отделения ГБУЗ РМ «Республиканская клиническая больница №4», поликлинического отделения ГБУЗ РМ «Рузаевская межрайонная больница», в научную деятельность и учебный процесс кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии, кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарёва».

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Область исследования диссертации соответствует формуле специальности 14.03.09 «Клиническая иммунология, аллергология», а именно пункту 1 – «Изучение патогенеза иммунозависимых заболеваний (иммунодефицитных состояний, аллергической и аутоиммунной патологии)», пункту 2 – «Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики аллергических и иммунопатологических процессов».

### **Личный вклад автора**

Автором составлен план и дизайн исследования, проведен анализ отечественных и зарубежных источников литературы по изучаемой проблеме, проведено комплексное обследование 180 пациентов с заболеваниями гастродуоденальной зоны – хроническим гастритом, язвенной болезнью желудка, двенадцатиперстной кишки, 30 клинически здоровых лиц. Лично автором проведены клиничко-anamnestическое обследование пациентов, дыхательный уреазный тест (Хелик-тест), иммуноферментный анализ сыворотки крови. Под руководством соответствующих специалистов автор принимал участие в морфологической оценке СО желудка и двенадцатиперстной кишки, иммунологическом обследовании пациентов методом проточной цитометрии. Автору принадлежит ведущая роль в сборе информации по теме диссертации, в анализе и обобщении результатов, написании статей.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа изложена на 157 страницах, включает 27 таблиц, 44 рисунка, состоит из разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы собственных исследований», «Результаты исследований», «Обсуждение полученных результатов», «Выводы». Указатель литературы содержит 212 источника, из них 92 отечественных и 120 зарубежных.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Проведено комплексное клиничко-лабораторное и инструментальное обследование при получении информированного согласия 180 пациентов с заболеваниями гастродуоденальной зоны (ГДЗ) и 30 здоровых добровольцев, вошедших в контрольную группу.

Критериями включения в контрольную группу явились:

- информированное согласие на участие в исследовании;
- отсутствие при обследовании клинических, анамнестических, лабораторных и инструментальных признаков обострения заболеваний гастродуоденальной зоны;
- отрицательный результат Хелик-теста;
- отсутствие указаний на предшествующий прием антибактериальных и/или антисекреторных препаратов в течение 4-х недель.

Критериями включения в группы сравнения явились:

- информированное согласие пациента на участие в исследовании;
- наличие признаков обострения хронического гастрита;
- наличие признаков ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки – единичные язвы;
- отсутствие указаний на предшествующий прием антибактериальных и/или антисекреторных препаратов в течение 4-х недель.

Критерии не включения в контрольную группу и группы сравнения:

- наличие острых инфекционных заболеваний;
- наличие ассоциированных клинических состояний в стадии субкомпенсации, декомпенсации (сахарный диабет, системные заболевания соединительной ткани);

- наличие сопутствующих хронических заболеваний в стадии обострения (бронхит, гепатит, пиелонефрит, цистит);
- тяжелая сердечная, дыхательная, печеночная, почечная недостаточность;
- наличие признаков ЯБ желудка и двенадцатиперстной кишки – множественные язвы;
- наличие опухолевого заболевания;
- прием иммуномодуляторов и/или вакцин в течение последних 6 месяцев.

Критерий исключения из контрольной группы и групп сравнения: отказ от участия.

Обследование (рисунок 1) проводилось на четырех клинических базах: Мордовская республиканская клиническая больница (МРКБ), Рузаевская межрайонная больница (МРБ), Поликлиника №4 г. Саранск, Мордовский республиканский онкологический диспансер (МРОД).

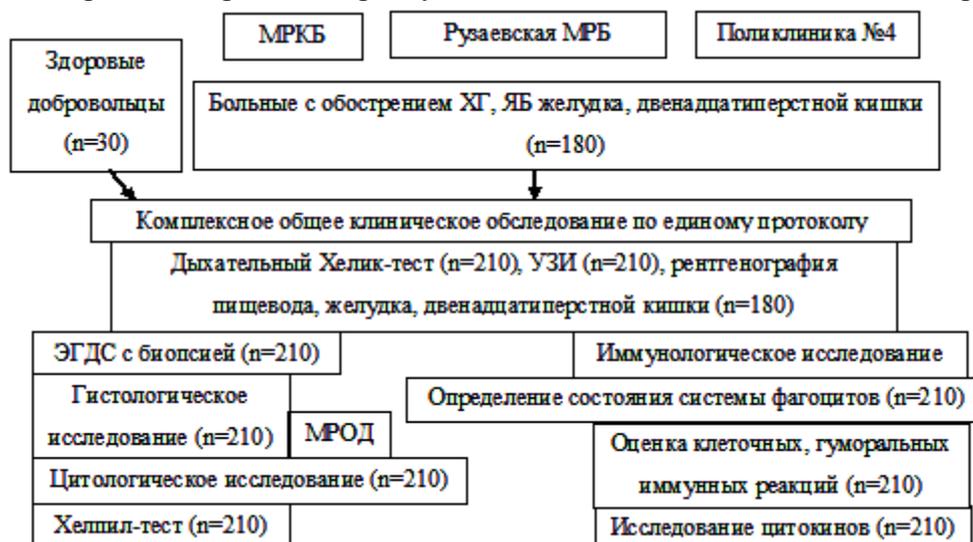


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Исследования соответствуют этическим и правовым нормам, законодательным требованиям документов, регламентирующих проведение биомедицинских исследований с участием человека, действующего законодательства Российской Федерации и Республики Мордовия, одобрены Локальным этическим комитетом Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарева (закключение № 39 от 16.05.2016 г.).

Больные были разделены на группы в зависимости от степени контаминации CO *H. pylori*. В 1-ю группу вошли 30 больных с обострением ХГ, ассоциированного с *H. pylori*; 2-ю группу составили 30 пациентов с обострением ХГ, неассоциированного с *H. pylori*. В 3-ю группу вошли 30 больных с обострением ЯБ желудка, ассоциированной с *H. pylori*; в 4-ю группу – 30 больных с обострением ЯБ желудка, неассоциированной с *H. pylori*. В 5-ю группу объединили 30 пациентов с обострением ЯБ двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H. pylori*; в 6-ю группу – 30 больных с обострением ЯБ двенадцатиперстной кишки, неассоциированной с *H. pylori* (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение обследованных лиц по полу и возрасту (абс.; %)

Показатель		Контрольная группа	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа	6-я группа
Пол	Мужчины	16; 53,3%	18; 60%	20; 66,7%	19; 63,3%	13; 43,3%	17; 56,7%	16; 53,3%
	Женщины	14; 46,7%	12; 40%	10; 33,3%	11; 36,7%	17; 56,7%	13; 43,3%	14; 46,7%
	20-24	2; 6,67%	8; 26,7%	7; 23,3%	–	–	3; 10%	1; 3,33%
	25-29	2; 6,67%	7; 23,3%	3; 10%	–	–	6; 20%	5; 16,7%
	30-34	5; 16,7%	10; 33,3%	6; 20%	–	–	9; 30%	7; 23,3%
	35-39	15; 50%	5; 16,7%	10; 33,3%	3; 10%	2; 6,67%	8; 26,7%	10; 33,3%
	40-44	4; 13,3%	–	4; 13,3%	11; 36,7%	8; 26,7%	3; 10%	4; 13,3%
	45-49	2; 6,67%	–	–	8; 26,7%	9; 30%	1; 3,33%	3; 10%
	50-54	–	–	–	5; 16,7%	6; 20%	–	–
	55-59	–	–	–	3; 10%	5; 16,7%	–	–
Средний возраст, лет		34,57±4,18	28,8±3,12	32,03±3,8	45,57±3,7	47,2±3,59	32,6±4,05	34,78±4,2

Группы обследованных лиц были сопоставимы по полу и возрасту.

Диагноз устанавливали на основании данных анамнеза, клинических проявлений и подтверждали с помощью физикальных, биохимических, эндоскопических, ультразвуковых, морфологических методов исследования, рекомендованных в стандарте медицинской помощи больным ХГ, в стандарте специализированной медицинской помощи при ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки.

Были проанализированы истории болезни и карты амбулаторного наблюдения с целью документального подтверждения имевшихся в анамнезе заболеваний. При объективном осмотре больные предъявляли жалобы на боль в эпигастральной области, изжогу, отрыжку воздухом, тошноту, снижение аппетита, отмечались обложенность языка налетом, болезненность при пальпации в эпигастрии.

При обследовании использовали клинико-лабораторные методы: общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови.

Эндоскопическое исследование пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки (ЭГДС) осуществлялось на основе общепринятой методики эндоскопами Olimpus Exera (CIF160), GIF-Q40 («OLYMPUS», Япония), врачами-эндоскопистами МРКБ, поликлиники №4 г. Саранска.

У обследованных лиц при эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) проводили забор биоптатов: из антрального отдела, тела, дна желудка, из дна и краев язвы желудка, двенадцатиперстной кишки. Материал в течение 1–1,5 часов после взятия доставляли в патогистологическую и центральную клинико-диагностическую лаборатории для дальнейшего исследования.

Кровь на иммунологическое обследование забиралась до эрадикационной терапии, оперативного вмешательства при получении информированного согласия в утренние часы натощак из локтевой вены в объеме 3 мл в пробирку с ЭДТА и 5 мл в пробирку без консервантов. Время коагуляции в пробирке не превышало 30 минут при комнатной температуре (20–25 °С). Сыворотка выделялась центрифугированием в течение 10 минут и помещалась в отдельные стерильные пробирки, образцы хранились при температуре не выше –20 °С до процедуры иммуноферментного анализа (не более 6 недель).

Отдаленный прогноз анализировали по данным прямых и телефонных контактов с пациентами, родственниками, амбулаторным картам (результаты ЭГДС, гистологического исследования биоптатов) в течение 2 лет (таблица 2).

Таблица 2 – Клинико-морфологические исходы гастродуоденальных заболеваний (абс., %)

Показатель	Нарастание стадии гастрита	Ульцерация желудочного эпителия	Ульцерация кишечного эпителия	Кровотечение
1-я группа	18; 60%	6; 20%	8; 26,7%	–
2-я группа	15; 50%	5; 16,7%	4; 13,3%	–
3-я группа	19; 63,3%	12; 40%	5; 16,7%	8; 26,7%
4-я группа	16; 53,3%	6; 20%	4; 13,3%	2; 6,7%
5-я группа	15; 50%	3; 10%	10; 33,3%	9; 30%
6-я группа	12; 40%	2; 6,7%	5; 16,7%	4; 13,3%

Содержание лейкоцитов и лейкограмму определяли с помощью гематологического анализатора XS-500i («Sysmex», Япония). Поглотительную способность НГ оценивали по относительному и абсолютному количеству активно фагоцитирующих клеток – активности фагоцитоза (АФ). Подсчитывали количество фагоцитов на 100 нейтрофилов и определяли в % активность фагоцитоза. Абсолютную фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН абс.) – абсолютное число активных фагоцитов в 1 мкл крови – вычисляли по формуле:

$$\text{ФАН абс.} = \text{АФ} \times \text{НГ абс.} / 100 \quad (1)$$

Цитотоксическую кислородзависимую активность НГ определяли по образованию ими супероксидного радикала в спонтанном тесте восстановления нитросинего тетразолия (НСТ). Определяли относительное количество формазанположительных клеток (ФПК, %) и средний цитохимический коэффициент (СЦК/НСТ).

Имунофенотип лимфоцитов по CD-антигенам (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD45, CD56)

определяли иммунофлюоресцентным методом на проточном цитометре Cytomics FC 500 с применением моноклональных антител производства «Beckman Coulter» (США), меченных FITC (изотиоцианат флуоресцеина), PE (фикоэритрин), PC5 (комплекс PE с цианином-5) и ECD (комплекс PE с техасским красным). Для удаления эритроцитов пробоподготовку проводили по безотмывочной технологии с применением лизирующего раствора OptiLyse C (Beckman Coulter, США). Результаты выражали в относительных и абсолютных значениях.

Методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови обследованных определяли уровни иммуноглобулинов, антител к антигенам микроорганизмов, пепсиногенов (PG) с расчетом их соотношения: PG-1/PG-2, цитокинов с применением наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия), Содержание и титр антител к антигенам герпесвирусов в сыворотке крови изучали для исключения микст-инфекции.

Активность комплемента сыворотки крови определяли микрометодом по Л.В. Вавиловой – по 50% гемолизу ( $CH_{50}$  в усл.ед.). Использовали набор реагентов, разработанных НИИ гематологии и переливания крови (г. Киров).

Определение ЦИК проводили по методике D. Bout et al., основанной на осаждении ЦИК в растворе полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000.

Исследования осуществляли в иммунологической лаборатории КДЛ МРКБ (заведующий – *Калачина Т.В.*), иммунологической лаборатории кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии МГУ им. Н.П. Огарёва (заведующий – к.м.н. профессор *Новикова Л.В.*).

Диагностику инфекции *H. pylori* осуществляли с помощью инвазивных (ХЕЛПИЛ-тест, цитологическое исследование мазков-отпечатков биоптатов, гистологическое исследование биоптатов) и неинвазивных (ХЕЛИК-тест, ИФА титра суммарных антител (IgG+IgM+IgA) к CagA *H. pylori*) методов.

Определение уреазной активности *H. pylori* в биоптатах СО желудка, двенадцатиперстной кишки проводили при помощи тест-системы ХЕЛПИЛ® (Бланк) (ООО «АМА», Россия). При цитологическом исследовании мазков-отпечатков с биоптатов, полученных при ЭГДС, препаратов при увеличении  $\times 1000$  оценивали наличие инфекционных агентов (хеликобактерий) и степень обсемененности: слабая (+) – до 20 микроорганизмов в поле зрения, средняя (++) – до 50 бактерий, высокая (+++) – более 50 микроорганизмов в поле зрения. При гистологическом исследовании парафинизированных срезов биоптатов также определяли наличие хеликобактерий и степень обсемененности по выше указанной градации. Экспресс-диагностика хеликобактериоза дыхательным методом проводилась с применением тест-системы ХЕЛИК® с индикаторной трубкой (ООО «АМА», Россия). Методом ИФА в сыворотке крови обследованных определяли уровни суммарных антител (САТ) к CagA *H. pylori* с применением набора реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия).

При статистической обработке результатов вычисляли медиану, 1, 3 квартиль – Me [Q1; Q3]. Для сравнения групп использовали непараметрический тест Манна-Уитни. О значимости различий в группах судили по вычислению степени вероятности – p. Достоверными считали различия при  $p \leq 0,05$ . Для оценки взаимосвязи величин определяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ), его значимость (p). С применением пакета программ MedCalc Version 18.11 вычисляли чувствительность (Se), специфичность (Sp) показателей, уравнения логистической регрессии, строили receiver operating characteristic (ROC) кривые с определением индекса согласованности модели по площади (area) под (under) ROC кривыми (AUC).

## ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ЗОНЫ

### **Изменения системы фагоцитов при *Helicobacter pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваниях**

Количество лейкоцитов у больных с обострением *H. pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваний превышало значения здоровых лиц в 1-й, 3-й, 5-й группах, было

больше ( $p < 0,05-0,01$ ), чем при *H. pylori*-неассоциированных ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки. Выраженность лейкоцитоза в 3-й группе значимо превалировала над показателем 1-й, 2-й, 4-й, 6-й групп ( $p < 0,05$ ), отражала степень воспалительного процесса.

Относительное количество нейтрофилов у больных 1-й, 3-й, 5-й групп превышало ( $p < 0,05$ ) значения контрольной группы, а также данные 2-й, 4-й, 6-й групп, имеющие схожие результаты. Во 2-й, 4-й, 6-й группах относительное количество НГ не отличалось от значений здоровых лиц.

Абсолютное количество нейтрофилов у больных 1-й, 3-й, 5-й групп превышало ( $p < 0,05-0,01$ ) значения контрольной группы, а также данные 2-й, 4-й, 6-й групп, увеличенные незначительно. Во 2-й, 4-й, 6-й группах абсолютное количество НГ проявляло лишь тенденцию к увеличению относительно здоровых лиц. У больных ЯБ желудка, ассоциированной с *H. pylori*, показатель превышал значения всех групп сравнения.

Относительное количество моноцитов крови больше ( $p < 0,05-0,01$ ), чем в контрольной группе, определялось в 1-й, 3-й и 5-й группах, во 2-й группе – не отличалось, в 4-й и 6-й группах – проявляло тенденцию к увеличению ( $p > 0,05$ ).

Абсолютная численность моноцитов у больных с обострением *H. pylori*-ассоциированных гастроудоденальных заболеваний повторяла динамику относительного количества и была больше значений здоровых лиц и больных *H. pylori*-неассоциированными ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки.

Относительное количество эозинофилов у больных 2-й, 4-й, 6-й групп не отличалось от значений здоровых лиц ( $p > 0,05$ ), в 1-й, 3-й, 5-й группах было больше. У больных ЯБ желудка, ассоциированной с *H. pylori*, показатель превышал значения всех групп сравнения. Данная динамика сохранялась и при оценке абсолютного количества эозинофилов. Абсолютное количество эозинофилов у больных 2-й, 4-й, 6-й групп не отличалось от значений здоровых лиц ( $p > 0,05$ ), в 1-й, 3-й, 5-й группах было больше.

Относительное и абсолютное количество базофилов в крови больных 2-й и 6-й групп не отличалось от контрольной группы, у пациентов 1-й, 3-5-й групп было значимо больше (рисунок 2). Абсолютное количество базофилов в 3-й группе превышало ( $p < 0,05-0,01$ ) значения контрольной, 1-й, 2-й, 4-й, 5-й, 6-й групп, но не достигало порога базофилии ( $0,2 \times 10^9/\text{л}$ ).

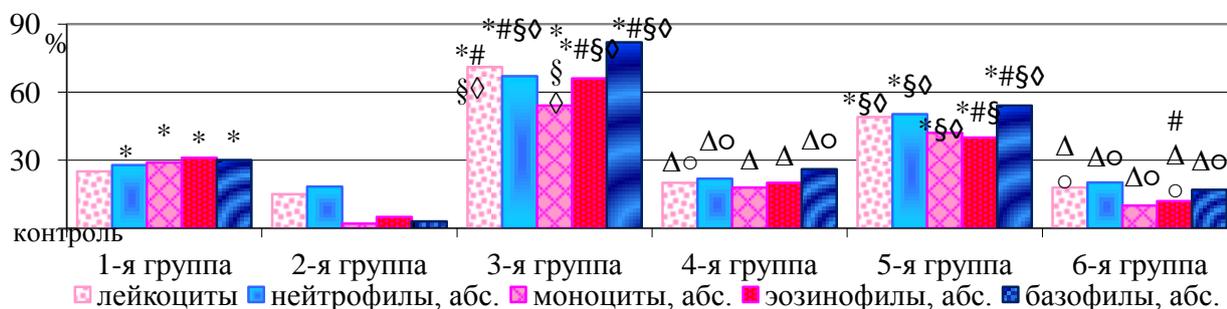


Рисунок 2 – Клеточный состав крови больных (% от контрольной группы)

Примечания: отличия от контрольной группы – \*, 1 группы – #, 2 группы – \$, 3 группы – Δ, 4 группы – ◇, 5 группы – ○

Таким образом, при обострении *H. pylori*-ассоциированных гастроудоденальных заболеваний, особенно при ЯБ желудка, количество миелоидных клеток периферической крови больных превышало значения здоровых лиц и больных с *H. pylori*-неассоциированными ХГ, ЯБ.

Поглотительная активность НГ у больных 1-й, 3-й, 5-й групп превышала ( $p < 0,05$ ) показатель здоровых лиц, у пациентов 2-й, 4-й, 6-й групп – не отличалась ни от контрольной группы, ни между собой.

Абсолютная ФАН превышала значения здоровых лиц во всех группах больных, особенно в 1-й, 3-й, 4-й, 5-й группах. У больных ЯБ желудка, ассоциированной с *H. pylori*, показатель превышал ( $p < 0,05-0,01$ ) значения контрольной, 1-й, 2-й, 4-й, 6-й групп.

У всех больных кислородзависимая цитотоксичность НГ была повышена, максимальна при ЯБ, ассоциированной с *H. pylori*. Наибольшее увеличение количества ФПК в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05-0,01$ ) наблюдали у больных 1-й, 3-й, 5-й группах. Во 2-й, 4-й, 6-й

группах повышение показателя было менее выраженным. В 3-й группе количество ФПК достоверно превышало значения всех групп сравнения. У больных был увеличен и СЦК/НСТ (рисунок 3). Во 2-й группе на фоне меньшей степени воспалительной инфильтрации СО желудка наблюдалась тенденция к увеличению показателя.

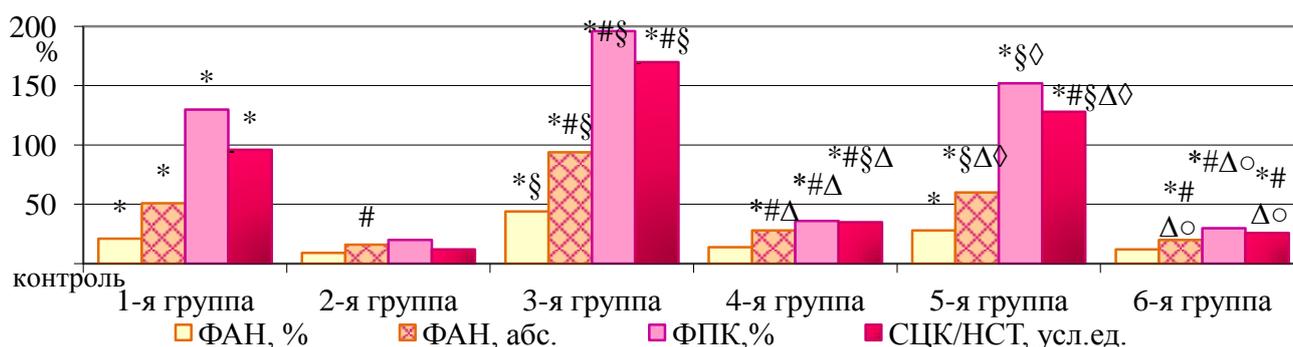


Рисунок 3 – Состояние поглотительной и киллинговой функций нейтрофилов при заболеваниях желудка, двенадцатиперстной кишки (% от контрольной группы)

Примечания: отличия от контрольной группы – \*, 1 группы – #, 2 группы – §, 3 группы – Δ, 4 группы – ◇, 5 группы – ○

Таким образом, при обострении *H. pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваний, особенно при ЯБ желудка, фагоцитарная активность и кислородзависимая цитотоксичность НГ превышали значения здоровых лиц и больных с *H. pylori*-неассоциированными ХГ, ЯБ.

### Состояние клеточных иммунных реакций при заболеваниях гастродуоденальной зоны

Относительное количество CD45<sup>+</sup>-лимфоцитов крови у обследованных нами больных при сравнении со значениями здоровых лиц проявляло тенденцию к увеличению во 2-й и 6-й группах, к снижению в 4-й группе, уменьшалось в 1-й, 3-й и 5-й группах. У больных ЯБ желудка, ассоциированной с *H. pylori*, наблюдалось снижение показателя относительно данных больных 2-й, 4-й, 6-й групп. Снижение относительного количества CD45<sup>+</sup>-лимфоцитов крови у больных 1-й, 3-й, 5-й групп при сравнении с контрольной группой наблюдалось на фоне увеличения численности НГ, но не отражало полной картины гемограммы, что подтверждалось повышением абсолютного количества CD45<sup>+</sup>-лимфоцитов в этих группах.

Абсолютное количество CD45<sup>+</sup>-лимфоцитов крови при сравнении со значениями здоровых лиц проявляло тенденцию к увеличению ( $p > 0,05$ ) в 1-й, 2-й и 6-й группах, значимо увеличивалось в 3-й, 4-й и 5-й группах больных. Абсолютное количество CD45<sup>+</sup>-лимфоцитов в 3-й группе превышало ( $p < 0,05$ ) значения больных 1-й, 2-й, 4-й и 6-й групп.

Относительное количество CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов у обследованных больных значимо не различалось ни со значениями клинически здоровых лиц, ни между группами сравнения. Количество показателя  $> 80\%$  определялось у 3 (10%) больных 1-й группы, 5 (16,7%) пациентов 2-й группы, 4 (13,3%) больных 4-й, 2 (6,67%) больных 5-й группы и 4 (13,3%) больных 6-й группы.

Абсолютные значения CD3<sup>+</sup>-клеток в 3-й, 4-й, 5-й и 6-й группах достоверно ( $p < 0,05$ ) превышали значения контрольной группы.

Относительное количество CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов превышало значения здоровых лиц лишь у больных 1-й группы, в остальных группах наблюдалась тенденция к увеличению ( $p > 0,05$ ).

Абсолютное количество CD4<sup>+</sup>-клеток в 1–6-й группах больных превышало ( $p < 0,05–0,01$ ) значения здоровых лиц. Значения показателя при обострении *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ желудка были больше, чем во 2-й и 4-й группах.

Относительное количество CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов в 3-й группе больных было меньше, чем в контрольной группе. При обострении *H. pylori*-неассоциированных ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки отмечалось доминирование показателя над значениями больных с инфекцией *H. pylori*: во 2-й группе больше ( $p < 0,05$ ), чем в 1-й и 3-й группах, в 4-й группе больше

( $p < 0,05-0,01$ ), чем в 1-й, 3-й, 5-й группах, в 6-й группе больше ( $p < 0,05$ ), чем в 1-й и 3-й группах.

Абсолютные значения цитотоксических Т-клеток в 1-й группе больных было меньше, чем в контрольной группе. При обострении *H. pylori*-неассоциированных ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки отмечалось доминирование показателя над значениями больных с инфекцией *H. pylori*: в 4-й группе больше ( $p < 0,05-0,01$ ), чем в 1-й, 3-й, 5-й группах, в 6-й группе больше ( $p < 0,05$ ), чем в 1-й группе.

CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-индекс в 1-й и 3-й группе больных превышал ( $p < 0,05$ ) значения контрольной группы. Исследуемый индекс в 1-й группе был больше ( $p < 0,01-0,05$ ), чем во 2-й группе, в 4-й, в 6-й; в 3-й группе превышал ( $p < 0,05$ ) значения 2-й, 4-й, 6-й групп; в 5-й группе был значимо больше ( $p < 0,05$ ), чем в 4-й группе. Имеются сведения о способности *H. pylori* изменять баланс CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов, секрецию цитокинов, тем самым дисрегулируя иммуногенез [Kim N., 2016].

Относительное количество CD16<sup>+</sup>-клеток в периферической крови больных 1-й, 3-й, 5-й групп превышало значения здоровых лиц ( $p < 0,01$ ), было максимальным при язвенном процессе в желудке на фоне инфекции *H. pylori* (рисунок 4). При обострении *H. pylori*-неассоциированных ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки увеличение показателя было незначительным. Количество CD16<sup>+</sup>-клеток при обострении *H. pylori*-ассоциированной ЯБ желудка превышало значения 1-й группы на 38,9% ( $p < 0,05$ ), 2-й – на 66,7% ( $p < 0,01$ ), 4-й – на 55% ( $p < 0,01$ ), 6-й группы – на 63% ( $p < 0,01$ ), при обострении *H. pylori*-ассоциированной ЯБ двенадцатиперстной кишки превышало значения 4-й и 6-й групп на 37,5% ( $p < 0,05$ ).

Абсолютная численность CD16<sup>+</sup>-клеток в периферической крови превышала ( $p < 0,05-0,001$ ) значения здоровых лиц в 1-й, 3-й, 4-й, 5-й, 6-й группах. При обострении *H. pylori*-ассоциированных ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки количество естественных киллерных клеток было достоверно большим, чем при отсутствии инфекции *H. pylori*. Численность CD16<sup>+</sup>-клеток в 1-й группе превышала ( $p < 0,01$ ) данные 2-й группы. В 3-й группе наблюдалось превалирование показателя над значениями больных 1-й, 2-й, 4-й, 5-й, 6-й групп. В 5-й группе количество CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов было больше ( $p < 0,05$ ), чем в 1-й, 2-й, 4-й, 6-й группах.

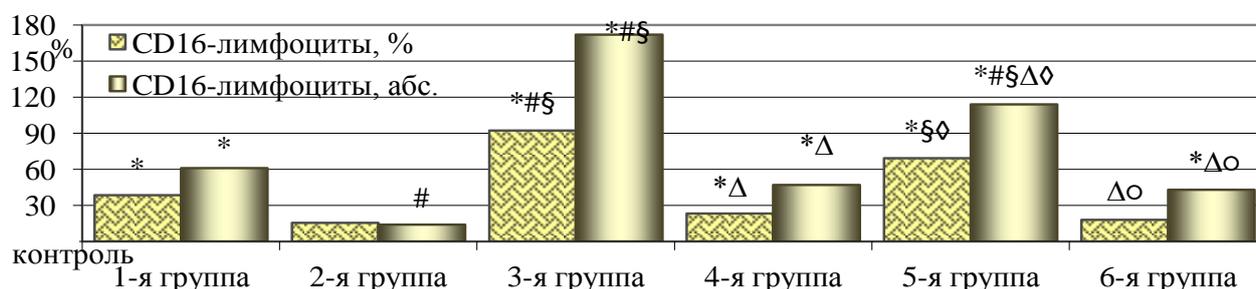


Рисунок 4 – Количество CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов у больных (% от контроля)

Примечания: отличия от контрольной группы – \*, 1 группы – #, 2 группы – §, 3 группы – Δ, 4 группы – ϕ, 5 группы – ◊

Полученные результаты по изменениям субпопуляций лимфоцитов при заболеваниях ГДЗ вполне согласуются с рядом предшествующих исследований [Агеева Е.С., 2011, Дворкин М.И., 2010, Синяков А.А., 2016].

### Изменения гуморального иммунитета при контаминации *Helicobacter pylori* оболочек желудка и двенадцатиперстной кишки

Относительное количество CD19<sup>+</sup>-лимфоцитов у больных с ЯБ двенадцатиперстной кишки при сравнении с контрольной группой уменьшалось ( $p < 0,05$ ) на 26,7% в 5-й и на 20% в 6-й группе, в 1-4-й группах больных проявляло тенденцию к снижению.

Абсолютные значения CD19<sup>+</sup>-лимфоцитов в 5-й и 6-й группах был меньше ( $p \leq 0,05$ ), чем в контрольной группе, в 3-й группе – больше ( $p < 0,05$ ), чем во 2-й, 4-й, 5-й, 6-й группах.

У больных с обострением ХГ и ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки наблюдались изменения иммуноглобулинового профиля крови (рисунок 5).

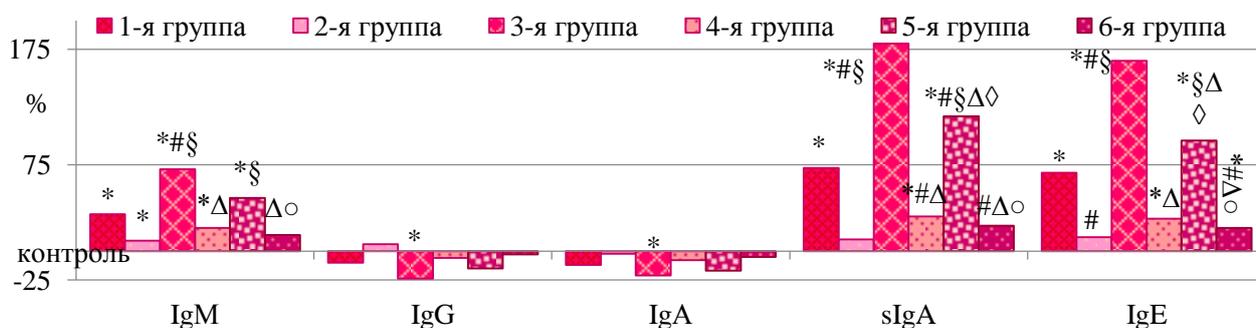


Рисунок 5 – Изменения иммуноглобулинов при гастродуоденальных заболеваниях (% от контроля)

Примечания: отличия от контрольной группы – \*, 1 группы – #, 2 группы – §, 3 группы – Δ, 4 группы – ◊, 5 группы – ◯

Количество IgM у больных 1-й, 3–5-й групп было больше значений здоровых лиц ( $p < 0,01–0,05$ ), во 2-й и 6-й группах значимо не отличалось. В 3-й группе показатель значимо превысил значения 1-й, 2-й, 4-й, 6-й групп. В 3-й группе превышение верхней границы нормальных значений (2 мг/мл) IgM наблюдалось у 5 (16,7%) больных.

Количество IgG в 3-й группе было меньше значений здоровых лиц на 24% ( $p < 0,05$ ), что косвенно подтверждало обострение ulcerозного процесса, в 1-й, 4-й, 5-й, 6-й группах проявляло тенденцию к снижению, во 2-й группе – к повышению. Количество IgG меньше 7 мг/мл определялось у 9 (30%) больных 3-й группы, 2 (3,67%) больных 5-й группы.

Количество IgA в 3-й группе было меньше значений здоровых лиц на 21,2% ( $p < 0,05$ ), в 1-й, 2-й, 4-й, 5-й, 6-й группах проявляло тенденцию к снижению.

Сывороточный уровень sIgA у больных 1-й, 3–6-й групп был больше значений здоровых лиц ( $p < 0,01–0,05$ ). При обострении *H. pylori*-ассоциированных ХГ, ЯБ количество sIgA оказалось большим, чем при отсутствии инфекции *H. pylori*: в 1-й группе превысило значения 2-й, 4-й, 6-й групп. В 3-й группе показатель превысил значения 1-й, 2-й, 4-й, 5-й, 6-й групп, в 5-й группе – был больше значений 1-й, 2-й, 4-й, 6-й групп. Сывороточный уровень sIgA  $> 5,47$  мг/л определился у 4 (13,3%) пациентов 1-й группы, у 24 (80%) больных 3-й группы и 14 (46,7%) пациентов 5-й группы. У 1 больного 2-й группы и 1 больного 4-й группы отмечалось снижение уровня sIgA до 1,5 мг/л.

Сывороточный уровень IgE у больных 1-й, 3–6-й групп был больше значений здоровых лиц ( $p < 0,01–0,05$ ). При обострении *H. pylori*-ассоциированных ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки количество IgE оказалось достоверно большим, чем при отсутствии инфекции *H. pylori*. В 1-й группе показатель превысил значения 2-й, 4-й, 6-й групп. В 3-й группе показатель превысил значения всех групп сравнения, в 5-й группе – значения 2-й, 4-й, 6-й групп. Сывороточная концентрация IgE  $> 100$  МЕ/мл определилась у 5 (16,7%) пациентов 3-й группы.

При ИФА определяли в сыворотке крови наличие и титр антител к антигенам *H. pylori*, герпесвирусов для исключения микст-инфекции. У больных 1-й, 3-й, 5-й групп общим признаком стало наличие повышенных титров САТ к CagA *H. pylori*. Наибольшие выявляемость и титры САТ к CagA *H. pylori* наблюдались при ulcerозном процессе.

Количество общего комплемента превышало значения здоровых лиц в 3-й группе на 25% ( $p < 0,05$ ), в группах сравнения проявляло тенденцию к увеличению. Значения показателя при обострении *Helicobacter pylori*-ассоциированных ХГ, ЯБ не отличалось от данных в отсутствие инфекции *H. pylori*. Превышение 5 усл. ед. отмечалось у 6 (20%) больных 1-й группы, также во 2-й группе, у 7 (23,3%) больных 3-й группы, что повторялось в 4–6 группах.

Уровень ЦИК крупных размеров превышал ( $p < 0,05–0,01$ ) значения контрольной группы в 1-й, 3-й, 5-й группах на 25, 75, 50 %. При обострении *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ желудка показатель был больше ( $p < 0,05$ ), чем в 1-й, 2-й, 4-й, 5-й и 6-й группах, у 3 (10%) больных отмечалось превышение верхней границы нормальных значений (5 усл. ед.).

При сравнении групп по уровню ЦИК средних размеров определено превышение ( $p < 0,05–0,001$ ) значений контрольной группы в 1–6-й группах. Показатель при обострении *Helicobacter*

*pylori*-ассоциированной ЯБ желудка был больше, чем в 1-й, 2-й, 4-й и 6-й группах, в 1-й группе был больше, чем во 2-й, в 5-й группе – больше, чем в 6-й. Превышение 15 усл. ед. отмечалось у 13 (14,4%) больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ.

При сравнении содержания ЦИК мелких размеров у больных определено достоверное превышение ( $p < 0,05-0,001$ ) значений контрольной группы в 1-й, 3–6-й группах. Показатель в 3-й группе был больше, чем в 1-й, 2-й, 4-й и 6-й группах, в 1-й группе был больше, чем во 2-й, в 5-й – больше, чем в 6-й группе. Превышение 75 усл. ед. отмечалось у 40 (44,4%) больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ: в 1-й, 3-й, 5-й группах – у 8 (26,7%), 19 (63,3%), 13 (43,3%).

Таким образом, при обострении *H. pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваний, особенно при ЯБ желудка, отмечается увеличение количества IgM, sIgA, IgE, ЦИК при снижении уровня IgG.

### Иммуномедиаторные изменения при *Helicobacter pylori*- ассоциированных гастродуоденальных заболеваниях

Сывороточный уровень IL-1 $\beta$  превышал значения контрольной группы в 1-й, 3-й, 4-й, 5-й и 6-й группах ( $p < 0,05-0,001$ ). Значения цитокина при обострении *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ желудка были больше, чем в 1-й, 2-й, 4-й, 5-й и 6-й группах. Превышение 11 пг/мл отмечалось у 26 (28,9%) больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ.

Количество IL-6 в сыворотке крови превышало значения контрольной группы в 1-й, 3-й, 4-й, 5-й и 6-й группах. Значения цитокина при обострении *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ желудка были больше, чем в 1-й, 2-й, 4-й, 5-й и 6-й группах. Превышение 10 пг/мл отмечалось у 10 (16,7%) больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ.

Сывороточный уровень IL-17 превышал средние значения контрольной группы в 1-й, 3-й, 4-й, 5-й и 6-й группах. Значения цитокина при обострении *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ желудка были больше, чем в 1-й, 2-й, 4-й и 6-й группах. Превышение верхней границы нормальных значений (5 пг/мл) отмечалось у 31 (34,4%) больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ: в 1-й, 3-й, 5-й группах – у 3 (10%), 16 (53,3%), 12 (40%).

Количество IFN- $\alpha$  в сыворотке крови больных было больше значений здоровых лиц, в 3-й группе преваляло над значениями 1-й, 2-й, 4-й, 5-й и 6-й групп. Превышение 5 пг/мл отмечалось у 53 (58,9%) больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ: в 1-й, 3-й, 5-й группах – у 14 (46,7%), 22 (73,3%), 17 (56,7%) больных соответственно; у 17 (28,3%) больных с *Helicobacter pylori*-неассоциированной ЯБ: в 4-й и 6-й группах – у 9 (30%) и 8 (26,7%) больных.

Сывороточные уровни IFN- $\gamma$  у больных превышали ( $p < 0,05-0,001$ ) значения контрольной группы. Значения цитокина в 3-й группе преваляло над значениями 1-й, 2-й, 4-й и 6-й групп. Количество IFN- $\gamma$  >10 пг/мл определялось у 31 (34,4%) больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ: в 1-й, 3-й, 5-й группах – у 7 (23,3%), 15 (50%), 9 (30%) больных.

Количество TNF- $\alpha$  в сыворотке крови больных было больше значений здоровых лиц (рисунок 6), в 3-й группе – больше значений 1-й, 2-й, 4-й, 5-й и 6-й групп. Превышение 6 пг/мл отмечалось у 37 (41,1%) больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ: в 1-й, 3-й, 5-й группах – у 8 (26,7%), 16 (53,3%), 13 (43,3%) больных соответственно; у 8 (13,3%) больных с *Helicobacter pylori*-неассоциированной ЯБ: по 4 (13,3%) больных в 4-й и 6-й группах.

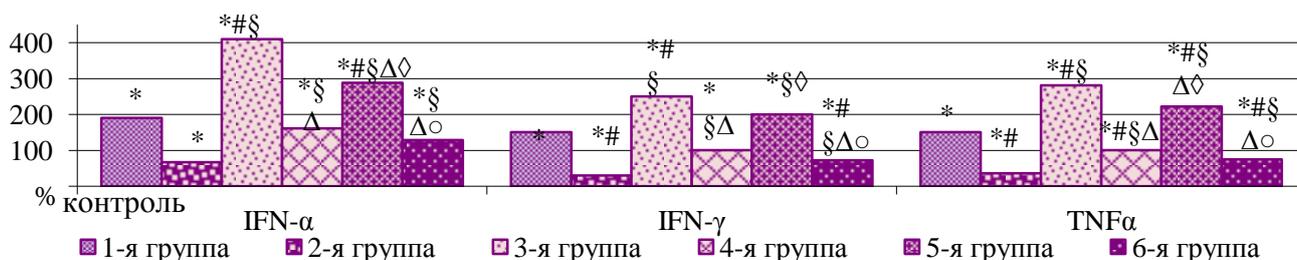


Рисунок 6 – Изменения уровня IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  у обследованных лиц (% от контроля)

Примечания: отличия от контрольной группы – \*, 1 группы – #, 2 группы – §, 3 группы – Δ, 4 группы – ◇, 5 группы – ○

Сывороточный уровень IL-8 >10 пг/мл определен у 83 (92,2%) больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ: в 1-й, 3-й, 5-й группах – у 23 (76,7%), 30 (100%), 30 (100%) больных соответственно; у 30 (50%) больных с *Helicobacter pylori*-неассоциированной ЯБ: у 16 (53,3%) больных в 4-й и у 14 (46,7%) в 6-й группах. Количество IL-8 достоверно ( $p < 0,01-0,001$ ) превышало значения контрольной группы в 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й и 6-й группах. Наибольшие концентрации медиатора в группах больных определялись при язвенном процессе в желудке на фоне инфекции *H. pylori*, наименьшие – при нехеликобактерном ХГ на фоне II стадии гастрита. Количество IL-8 в 3-й группе превышало ( $p < 0,05-0,001$ ) значения 1-й, 2-й, 4-й и 6-й групп.

Количество MCP-1 в сыворотке крови больных превышало ( $p < 0,05-0,001$ ) значения здоровых лиц в 1-й, 3-й, 4-й, 5-й и 6-й группах. Концентрация MCP-1 >280 пг/мл определилась лишь у 6 (20%) больных 3-й группы, при этом значения цитокина при обострении *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ желудка были больше, чем в 1-й, 2-й, 4-й, 5-й и 6-й группах.

Количество IL-2 >10 пг/мл определилось у 23 (25,6%) больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ: у 4 (13,3%) пациентов 1-й группы, 11 (36,7%) 3-й, 8 (26,7%) 5-й группы больных. Сывороточный уровень IL-2 превышал ( $p < 0,05-0,001$ ) значения здоровых лиц в 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й и 6-й группах. Значения цитокина при обострении *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ желудка были больше, чем в 1-й, 2-й, 4-й, 5-й и 6-й группах.

Количество GM-CSF в сыворотке крови больных превышало ( $p < 0,001$ ) значения здоровых лиц. Значения показателя в 3-й группе были выше, чем у больных с обострением ХГ. У больных 2-й, 4-й, 6-й групп уровень GM-CSF не достигал дискриминационного уровня в отличие от *Helicobacter pylori*-ассоциированных гастроудоденальных заболеваний, когда показатель был >4 пг/мл у 24 (26,7%) больных: у 5 (16,7%) пациентов 1-й, 12 (40%) 3-й, 7 (23,3%) 5-й групп.

Количество ЭПО в сыворотке больных 1-й, 3-й, 4-й, 5-й, 6-й групп превышало значения контрольной группы. Сывороточный уровень ЭПО был выше 28,9 мМе/мл у 6 (20%) больных 3-й группы и 3 (10%) больных 5-й группы. Значения цитокина при обострении *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ желудка были больше, чем в 1-й, 2-й, 4-й, 5-й и 6-й группах.

Количество VEGF >246 пг/мл определилось у 49 (54,4%) больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ: в 1-й, 3-й, 5-й группах – у 9 (30%), 24 (80%), 16 (53,3%) больных соответственно; у 14 (23,3%) больных с *Helicobacter pylori*-неассоциированной ЯБ: в 4-й и 6-й группах – у 9 (30%) и 8 (26,7%) больных. Сывороточный уровень VEGF у больных превышал значения здоровых лиц ( $p < 0,05-0,001$ ). Значения цитокина при обострении *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ желудка были больше, чем в 1-й, 2-й, 4-й и 6-й группах.

Концентрация IL-4 >4 пг/мл определилась у 26 (14,4%) больных: у 6 (20%) пациентов 1-й, 1 (3,3%) больного 2-й, 6 (20%) 3-й, 5 (16,7%) 4-й, 6 (20%) 5-й групп, у 2 (6,7%) больных 6-й группы. Количество исследуемого цитокина превышало ( $p < 0,05$ ) значения контрольной группы в 3-й и 5-й группах обследованных пациентов, в остальных группах проявляло тенденцию к увеличению.

Превышения верхней границы нормальных значений IL-10 в сыворотке крови здоровых лиц и больных не отмечалось. Сывороточный уровень противовоспалительного цитокина в 3-й, 4-й, 5-й группах был меньше ( $p < 0,05$ ) значений контрольной группы и 2-й группы (при обострении *Helicobacter pylori*-неассоциированного ХГ).

Таким образом, при обострении *H. pylori*-ассоциированных гастроудоденальных заболеваний, особенно при ЯБ желудка, отмечается увеличение сывороточных уровней провоспалительных интерлейкинов, интерферонов, хемокинов, ростовых факторов на фоне сниженного количества противовоспалительного IL-10.

### **Морфофункциональное состояние оболочек желудка и двенадцатиперстной кишки при хроническом гастрите, язвенной болезни**

При эндоскопическом осмотре желудка и двенадцатиперстной кишки признаки гастрита (отек, гиперемия) были выявлены у 30 (50%) больных – хронический неатрофический гастрит (1-я группа) и 30 (50%) – хронический атрофический гастрит (2-я группа). У 10 (33,3%) больных 1-й группы определялся неатрофический ХГ антрального отдела с развитием стаза и пилороспазма.

При эндоскопическом осмотре желудка и двенадцатиперстной кишки у 120 больных были выявлены признаки воспаления (отек, гиперемия), наличие язвенного дефекта; у 89 (74,2%) больных наблюдались признаки атрофии СО. Наиболее частой локализацией язв у больных 3-й, 4-й групп явилась СО тела желудка, антрального отдела. У больных 5-й, 6-й групп язвенные дефекты чаще обнаруживали на передней стенке луковицы (у 39 (65%) больных), реже на задней стенке луковицы (у 19 (31,7%) больных), в постбульбарном отделе (у 2 (3,3%) больных).

У больных ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки наблюдались изменения продукции пепсиногенов. Количество PG-1 в сыворотке крови <50 мкг/л определялось у 11 (36,7%) больных 2-й группы, что соответствовало I–II стадии гастрита, было обусловлено прогрессирующим уменьшением количества главных клеток желудочных желез, подтверждалось при гистологическом исследовании гастробиоптатов. При сравнении с контрольной группой показатель во 2-й группе был меньше. Сывороточный уровень PG-1 >130 мкг/л отмечался у 7 (23,3%) больных 3-й группы и 4 (13,3%) больных 4-й группы на фоне IV степени гастрита. У больных 3-й группы наблюдалось достоверное увеличение уровня PG-1 ( $p < 0,05–0,01$ ) относительно контрольной, 1-й, 2-й, 5-й и 6-й групп больных.

Количество PG-2 в сыворотке крови <4 мкг/л определялось у 6 (20%) больных 2-й группы и 2 (6,67%) больных 6-й группы, что соответствовало I–II стадии гастрита, подтверждалось при гистологическом исследовании гастробиоптатов. Сывороточный уровень PG-2 >22 мкг/л отмечался у 10 (33,3%) больных 3-й группы и 6 (20%) больных 5-й группы на фоне IV степени гастрита. У больных *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ показатель превышал значения контрольной группы (рисунок 7).

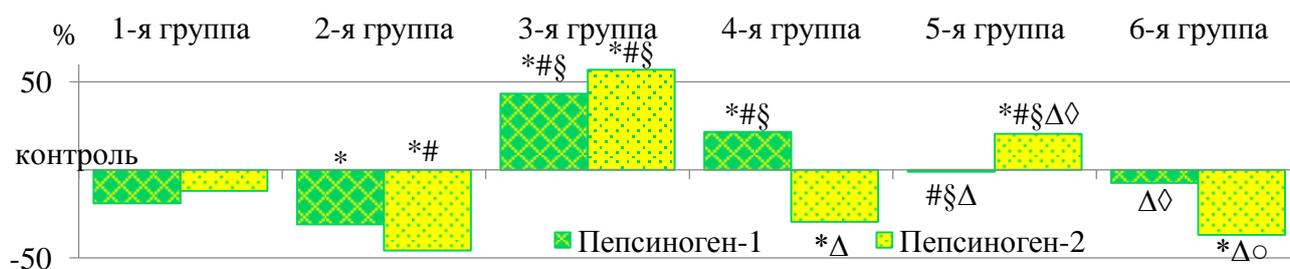


Рисунок 7 – Количество пепсиногенов при гастродуоденальных заболеваниях (% от контроля)

Примечания: отличия от контрольной группы – \*, 1 группы – #, 2 группы – §, 3 группы – Δ, 4 группы – ◇, 5 группы – ○

Отношение количества PG-1 и PG-2 в контрольной группе было больше, чем 3:1, чаще 4:1. Линейное уменьшение соотношения PG-1/PG-2 наблюдалось при увеличении выраженности атрофии СО желудка: во 2-й группе у 12 (40%) больных было меньше, чем 3:1. У 9 (30%) больных 3-й группы соотношение PG-1/PG-2 было в пределах 5:1–13:1.

Таким образом, у больных *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ желудка отмечалось статистически значимое превалирование сывороточного уровня пепсиногенов над значениями при ЯБ двенадцатиперстной кишки, ХГ. Данный факт обусловлен морфофункциональными особенностями СО ГДЗ и большей степенью воспалительного процесса.

### **Взаимосвязи иммунных изменений, маркеров *Helicobacter pylori*-инфекции, морфофункциональных нарушений при заболеваниях гастродуоденальной зоны**

У больных ХГ, ЯБ обнаружена корреляция количества PG-1 и степени обсемененности СО *H. pylori*, при *Helicobacter pylori*-ассоциированных ХГ, ЯБ. Корреляция PG-2 и степени обсемененности СО *H. pylori* была сильной. Обращает на себя внимание, наличие высоко значимых, сильных положительных взаимосвязей показателей системы фагоцитов крови со степенью воспалительного процесса и сывороточным уровнем PG-2. У больных выявлены высоко значимые, сильные положительные корреляции основных субпопуляций лимфоцитов крови и степени воспалительного процесса, количества CD16<sup>+</sup>-клеток и сывороточного уровня PG-2, степени обсемененности СО *H. pylori* и CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-индекса.

Аналогично другим иммунным факторам изменения цитокинов при гастродуоденальных заболеваниях были сильно взаимосвязаны со степенью воспалительного процесса, исключением стали MCP-1 и IL-10 со средней силой зависимости, с сывороточным уровнем PG-2, кроме IL-4, GM-CSF со средней силой зависимости и MCP-1, IL-10 с умеренной и слабой силой корреляции. У больных выявлена сильная корреляция степени обсемененности CO *H. pylori* и сывороточного уровня IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, количества PG-1 и VEGF.

При построении ROC кривых установили чувствительность, специфичность и диагностическую ценность гуморальных и клеточных иммунных факторов, определили их влияние на развитие атрофии, ulcerации желудочного, кишечного эпителия, гастродуоденального кровотечения, составили уравнения логистической регрессии. Разработанные прогностические модели были очень хорошего и отличного качества.

При гастродуоденальных заболеваниях наибольшая ценность при определении степени гастрита отмечалась у количества лейкоцитов, относительного количества нейтрофилов, эозинофилов, активно фагоцитирующих нейтрофилов, СЦК/НСТ, абсолютной численности CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>-лимфоцитов, IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  (рисунок 8).

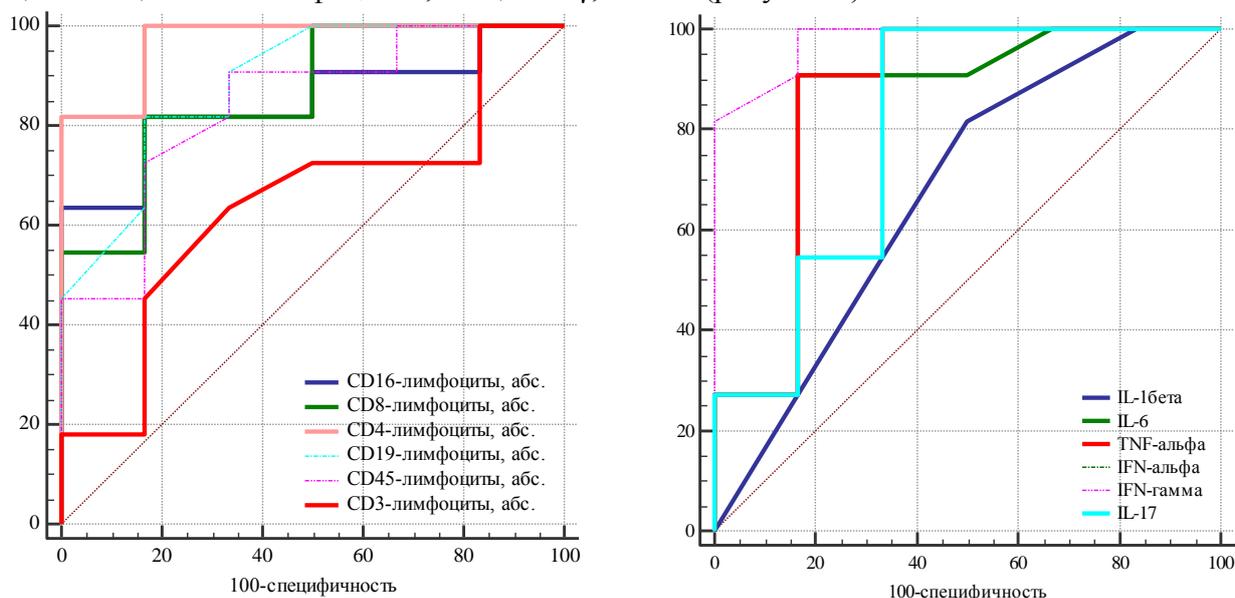


Рисунок 8 – ROC кривые зависимости субпопуляций лимфоцитов, цитокинов и степени гастрита

При определении стадии гастрита наибольшая специфичность (>92%) была характерна для количества лейкоцитов, нейтрофилов, активно фагоцитирующих нейтрофилов, СЦК/НСТ при невысокой чувствительности – 29%. Специфичность исследования абсолютного количества CD45<sup>+</sup>-лимфоцитов, относительного и абсолютного количества CD16<sup>+</sup>-клеток при атрофическом процессе составила 95–100 % при чувствительности >26,32%. При построении ROC кривых специфичность >89% наблюдалась у IgM, комплемента, ЦИК мелких размеров при чувствительности – 29–34 %. Наибольшая AUC отмечалась у относительного количества CD45<sup>+</sup>-лимфоцитов, абсолютной численности CD8<sup>+</sup>-клеток, IgG, IgA, IL-10. Среди цитокинов специфичность 90–98 % при чувствительности – 29–42 % отмечалась у IL-2, IL-6, IL-17, IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , GM-CSF, ЭПО, VEGF. Интересен факт более чем четырехкратного превышения верхней границы нормы диагностическим критерием СЦК/НСТ при атрофии желудочного эпителия (>0,66 усл. ед.), трехкратного – при контаминации *H. pylori* CO (>0,4 усл.ед.).

При гастродуоденальных заболеваниях наибольшая ценность при определении степени контаминации *H. pylori* CO отмечалась у относительного количества CD45<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов, IgG, IgA, sIgA, САТ к СagA *H. pylori*, ЦИК мелких размеров, IL-10.

Таким образом, исследование наличия и характера корреляционных связей иммунных факторов с выраженностью воспалительного, атрофического процессов, степенью обсемененности CO *H. pylori*, сывороточным уровнем пепсиногенов является диагностически и прогностически ценным при обострении ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфицированность населения *H. pylori* не имеет территориальных границ, возрастных рамок. Колонизация *H. pylori* ткани желудка и двенадцатиперстной кишки способствует развитию ХГ, ЯБ, раку желудка. Факторы патогенности *H. pylori* дисрегулируют иммунные реакции, приводя к персистенции патогена, изменяют секреторную активность желудочных желез, нарушают целостность СО желудка, двенадцатиперстной кишки.

Учитывая имеющиеся данные, установление корреляционных зависимостей иммунных изменений, морфофункциональных нарушений, степени контаминации СО *H. pylori* вызывает интерес в плане разработки иммунодиагностических критериев ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки.

**Целью исследования** стала разработка алгоритма дифференциальной иммунодиагностики *H. pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваний путем анализа нарушений функционирования иммунной системы и сопоставления с морфофункциональными изменениями слизистых оболочек.

Для достижения цели нами проведено комплексное клиничко-лабораторное и инструментальное обследование при отвечаемости критериям включения в исследование и получении информированного согласия 180 пациентов с заболеваниями гастродуоденальной зоны и 30 здоровых добровольцев, вошедших в контрольную группу. Больные были разделены на группы в зависимости от степени контаминации СО *H. pylori*. В 1-ю группу вошли 30 больных с обострением ХГ, ассоциированного с *H. pylori*; 2-ю группу составили 30 пациентов с обострением ХГ, неассоциированного с *H. pylori*. В 3-ю группу вошли 30 больных с обострением ЯБ желудка, ассоциированной с *H. pylori*; в 4-ю группу – 30 больных с обострением ЯБ желудка, неассоциированной с *H. pylori*. В 5-ю группу объединили 30 пациентов с обострением ЯБ двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H. pylori*; в 6-ю группу – 30 больных с обострением ЯБ двенадцатиперстной кишки, неассоциированной с *H. pylori*.

Для оценки клиничко-морфологических исходов заболеваний ГДЗ результаты ЭГДС и гистологического исследования биоптатов больных анализировали в течение 2 лет. За период наблюдения нарастание атрофии желудочного эпителия отмечалось у 52 (57,8%) больных *H. pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ и 43 (47,8%) больных ХГ, ЯБ в отсутствие инфекции *H. pylori*. Ульцерация желудочного эпителия обнаруживалась у 21 (23,3%) больного *H. pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ и 13 (14,4%) больных *H. pylori*-неассоциированными ХГ, ЯБ, кишечного эпителия – у 23 (25,6%) и 13 (14,4%) больных. Кровотечения из язвенного дефекта были диагностированы у 17 (28,3%) больных *H. pylori*-ассоциированной ЯБ и 6 (10%) больных *H. pylori*-неассоциированной ЯБ. Сравнение частоты осложнений ХГ, ЯБ выявило, что при инфекции *H. pylori* стадия гастрита нарастала в 1,2 раза чаще, ульцерация желудочного и кишечного эпителия – в 1,6 и 1,8 раза, кровотечение – в 2,8 раза чаще, чем при отсутствии патогена.

В процессе выполнения работы решали ряд **задач**.

При исследовании состояния клеточного и гуморального звеньев врожденного и адаптивного иммунитета при обострении ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки изучали количество гранулярных и мононуклеарных фагоцитов, их поглотительную и микробицидную активность. Иммунофенотип лимфоцитов по CD-антигенам (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD45, CD56) определяли иммунофлюоресцентным методом на проточном цитометре. Твердофазным иммуноферментным методом в сыворотке крови обследованных определяли уровни иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA, sIgA, IgE), специфических антител к антигенам потенциально причинных микроорганизмов (*H. pylori*, *Herpesvirus*). Также исследовали содержание общего комплемента, циркулирующих иммунных комплексов. Кровь на иммунологическое обследование забиралась однократно до начала терапии.

У больных с обострением ХГ, ЯБ оценивали сывороточные уровни цитокинов. Показатели сгруппировали с учетом преобладающей функциональной активности: провоспалительные цитокины (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), хемокины (IL-8, MCP-1), факторы роста клеток (IL-2, GM-CSF, ЭПО, VEGF), противовоспалительные цитокины (IL-4, IL-10).

Следующую задачу по установлению зависимостей между изменениями иммунных показателей и выраженностью воспалительного, атрофического процессов, степенью обсемененности СО *H. pylori*, сывороточным уровнем пепсиногенов при обострении ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки решали путем определения наличия, направленности, силы корреляционных связей.

Для разработки иммунодиагностических критериев *Helicobacter pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваний, прогностических моделей осложненного течения ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки провели регрессионный анализ с построением ROC кривых, вычислением индекса согласованности, чувствительности, специфичности показателей, составлением уравнений логистической регрессии.

В результате исследования были получены **новые научные данные**, обладающие теоретической и практической ценностью.

В итоге исследования были сформулированы и обоснованы следующие **положения диссертации, выносимые на защиту**.

1. При *H. pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваниях развиваются дисрегуляторные процессы в клеточном и гуморальном звеньях иммунной системы, более выраженные при обострении ЯБ желудка.

2. При *H. pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваниях повышенная продукция провоспалительных цитокинов и ростовых факторов превосходит значения при *H. pylori*-неассоциированных ХГ, ЯБ.

3. Характер взаимосвязи иммунных изменений и степени контаминации СО *H. pylori* определяет морфофункциональные нарушения и течение ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки.

Согласно полученным уравнениям логистической регрессии прогностической ценностью при гастродуоденальных заболеваниях обладают многие иммунные факторы, как в комбинациях, так и в отдельности. Выявлена высокая предсказательная способность развития атрофии, ulcerации желудочного, кишечного эпителия, гастродуоденального кровотечения у количества моноцитов, НГ, ФАН, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов, Ig. Добавление к определяемому иммуноглобулиновому профилю оценки наличия и титра САТ к CagA *H. pylori* увеличивало % верно предсказанных случаев осложненного течения ХГ, ЯБ. Аналогичная динамика наблюдалась при расширении ряда комбинаций исследованием цитокинов, регулирующих пролиферацию нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов, межклеточную кооперацию: оценка количества MCP-1, IFN- $\gamma$  и абсолютной численности НГ, ФАН, моноцитов, сывороточного уровня IL-2, -4, -10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и абсолютной численности CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов. Определение в сыворотке крови количества всех 14 изучаемых цитокинов с введением данных в полученные уравнения верно прогнозировало увеличение стадии гастрита, развитие кровотечения из язвенного дефекта в 100% случаев. Исследование меньшего количества показателей экономически обосновано, поэтому важно обнаружение прогностической ценности при нарастании атрофии СО, ulcerации желудочного, кишечного эпителия, гастродуоденальном кровотечении у следующих комбинаций цитокинов: 1) IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$ , GM-CSF, 2) IL-10, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , VEGF, 3) IL-10, VEGF, отраженных в порядке убывания количества показателей. Оценка отдельных показателей: сывороточного уровня IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , VEGF, sIgA, абсолютной численности CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов, может позволить весьма эффективно прогнозировать развитие осложнений ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки.

Таким образом, исследование наличия и характера корреляционных связей иммунных факторов с выраженностью воспалительного, атрофического процессов, степенью обсемененности СО *H. pylori*, сывороточным уровнем пепсиногенов является диагностически и прогностически ценным при обострении ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки.

При обобщении и анализе полученных результатов были сформулированы **выводы**.

Итогом проведенного исследования можно считать разработанный алгоритм дифференциальной иммунодиагностики *H. pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваний (рисунок 9).

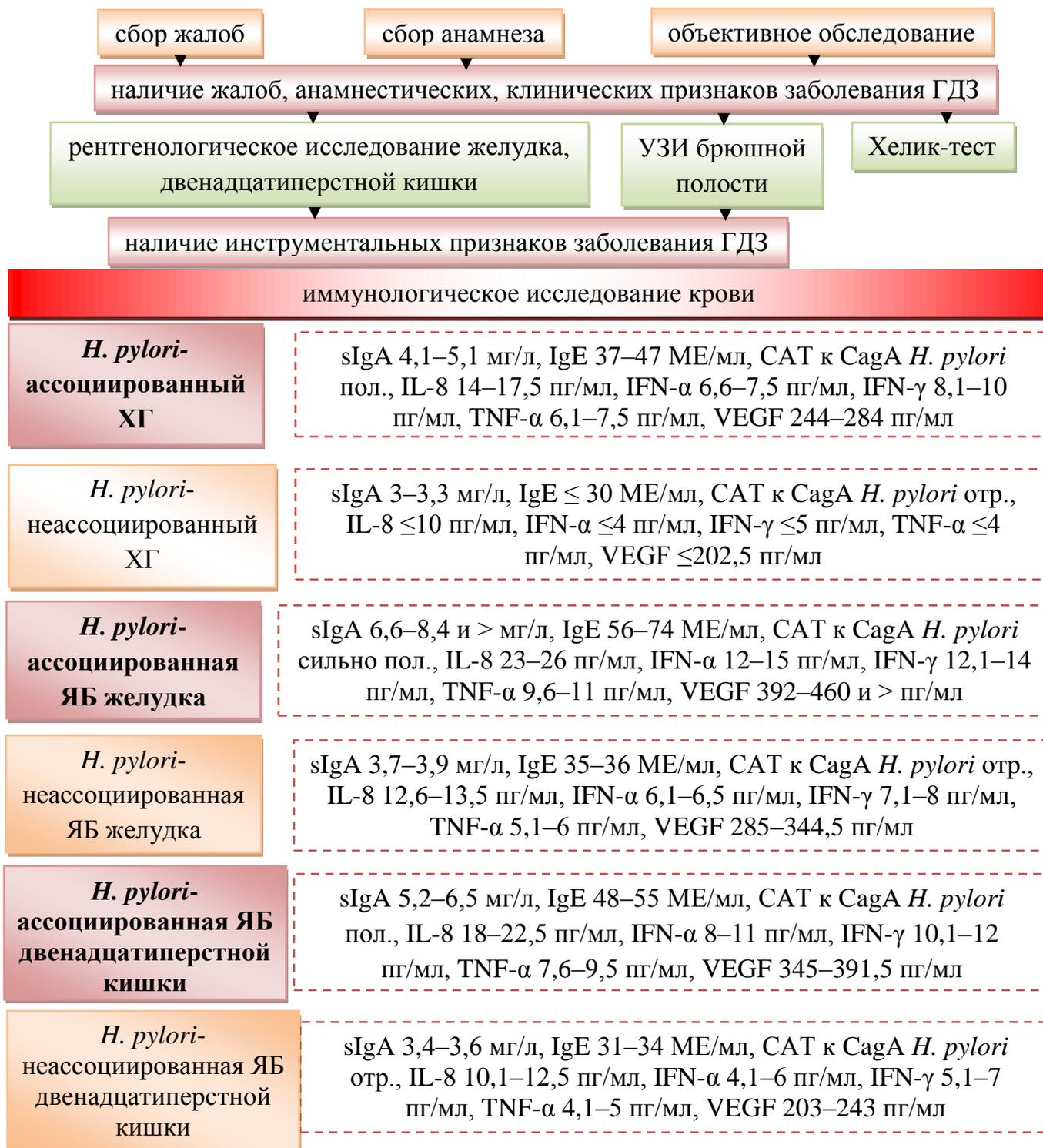


Рисунок 9 – Алгоритм дифференциальной иммунодиагностики *Helicobacter pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваний

## ВЫВОДЫ

1. При *Helicobacter pylori*-ассоциированных заболеваниях ГДЗ иммунные изменения: увеличение количества и цитотоксичности НГ, количества естественных киллеров, CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов, дисиммуноглобулинемия, накопление ЦИК, определяются локализацией и характером патологического процесса, более выражены при ЯБ желудка.

2. При *Helicobacter pylori*-ассоциированных ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки сывороточные уровни провоспалительных цитокинов и ростовых факторов (VEGF, GM-CSF, IL-2) достоверно превышают значения больных *Helicobacter pylori*-неассоциированными ХГ, ЯБ.

3. При ЯБ желудка, ассоциированной с *Helicobacter pylori*, сывороточные уровни IL-8 превышают дискриминационный уровень в 100%, VEGF – в 80%, IFN- $\alpha$  – в 73,3% случаев.

4. При обострении ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки сывороточный уровень PG-1 сильно взаимосвязан с количеством VEGF, сывороточный уровень PG-2 – с количеством НГ, CD16<sup>+</sup>-клеток, IgM, sIgA, IgE, VEGF, титром САТ к CagA *H. pylori*.

5. При обострении ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки степень контаминации СО *H. pylori* сильно взаимосвязана с CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-индексом, сывороточным уровнем sIgA, IgE, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, титром САТ к CagA *H. pylori*.

6. Диагностической ценностью при определении стадии гастрита, степени контаминации СО *H. pylori* обладают количество CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов, IgA, IL-10.

7. При заболеваниях ГДЗ по количеству моноцитов, НГ, ФАН, Ig, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>-, CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов, TNF- $\alpha$ , VEGF можно с высокой вероятностью верно прогнозировать развитие атрофии, ulcerации желудочного, кишечного эпителия, гастродуоденального кровотечения.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Применение разработанного алгоритма дифференциальной иммунодиагностики *H. pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваний показано у больных с клиническими признаками заболеваний желудка, двенадцатиперстной кишки, особенно при наличии противопоказаний к проведению ЭГДС.

2. При обследовании больных может быть использован способ иммунодиагностики заболеваний ГДЗ, позволяющий по наличию клинических критериев, положительному титру САТ к CagA *H. pylori*, сывороточным уровням sIgA, PG-1, PG-2 определять докализацию эрозивно-язвенных дефектов в желудке и/или двенадцатиперстной кишке.

3. Для дифференциальной диагностики заболеваний ГДЗ следует оценивать сывороточные уровни IL-8, IFN- $\alpha$ , VEGF, которые при обострении *Helicobacter pylori*-ассоциированной ЯБ желудка превышают дискриминационную концентрацию в 73–100 % случаев.

4. У больных ХГ, ЯБ желудка, 12-перстной кишки исследование сывороточного уровня TNF- $\alpha$  следует использовать для прогнозирования осложненного течения: при количестве 10 пг/мл и более вероятность ulcerации желудочного эпителия верно предсказывается в 90%, ulcerации кишечного эпителия – в 88%, гастродуоденального кровотечения – в 96% случаев.

5. У больных ХГ, ЯБ желудка, 12-перстной кишки исследование сывороточного уровня VEGF можно использовать для прогнозирования гастродуоденального кровотечения, вероятность которого при количестве 408 пг/мл и более верно предсказывается в 96% случаев.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФ	– активность фагоцитоза	CagA	– цитотоксинассоциированный протеин
ГДЗ	– гастродуоденальная зона	CD	– cluster of differentiation
ИФА	– иммуноферментный анализ	GM-CSF	– гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
НГ	– нейтрофильные гранулоциты	<i>H. pylori</i>	– <i>Helicobacter pylori</i>
САТ	– суммарные антитела	IFN	– интерферон (interferon)
СО	– слизистая оболочка	Ig	– иммуноглобулин (immunoglobulin)
УЗИ	– ультразвуковое исследование	IL	– интерлейкин (interleukin)
ФАН	– фагоцитарная активность нейтрофилов	MCP-1	– monocyte chemoattractant protein-1
ХГ	– хронический гастрит	PG-1	– пепсиноген-1
ЦИК	– циркулирующий иммунный комплекс	sIgA	– секреторный иммуноглобулин А
ЭГДС	– эзофагогастродуоденоскопия	TNF- $\alpha$	– фактор некроза опухоли- $\alpha$
ЭПО	– эритропоэтин	VEGF	– фактор роста эндотелия сосудов
ЯБ	– язвенная болезнь		

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### *Статьи в журналах, включенных в базы Scopus, Web of Science*

1. Матвеева Л.В., Капкаева Р.Х., Чудайкин А.Н., Мишанина Л.С. Изменения моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 при *Helicobacter pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваниях // **Инфекция и иммунитет.** – 2018. – Т. 8, № 2. – С. 150-156. *Scopus, Web of Science*
2. Полозова Э.И., Мосина Л.М., Новикова Л.В., Трохина И.Е., Капкаева Р.Х. Взаимосвязь иммунологических нарушений, гипоксии и липопероксидации при эрозивно-язвенных поражениях двенадцатиперстной кишки в условиях коморбидной патологии // **Медицинская иммунология.** – 2019. – Т. 21, №3. – С. 559-566. *Scopus*

### *Статьи в журналах, включенных в перечень ВАК*

3. Матвеева Л.В., Капкаева Р.Х., Мосина Л.М., Курусин В.М. Изменения пристеночной микробиоты желудка в зависимости от стадии атрофии слизистой оболочки на фоне активного воспалительного процесса // **Медицинский альманах.** – 2016. – №1 (41). – С. 44-47.
4. Матвеева Л.В., Капкаева Р.Х., Чудайкин А.Н., Мишанина Л.С. Изменения сывороточного уровня туморнекротизирующего фактора- $\alpha$  при заболеваниях желудка // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.** – 2018. – № 3. – С. 53-57.
5. Матвеева Л.В., Капкаева Р.Х., Мишанина Л.С., Чудайкин А.Н. Ассоциация сывороточного уровня пепсиногенов с колонизацией *Helicobacter pylori* слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки при язвенной болезни // **Медицинский альманах.** – 2018. – № 1 (52). – С. 23-25.

### *Тезисы в журналах, включенных в перечень ВАК*

6. Матвеева Л.В., Горяев В. М., Мишанина Л. С., Солдатова А. А., Капкаева Р. Х. Газово-электролитный состав крови и уровень эритропоэтина при гастродуоденальном кровотечении // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.** – 2014. – № 11. – С. 81.
7. Матвеева Л.В., Мишанина Л. С., Горяев В. М., Капкаева Р. Х., Солдатова А. А. Изменения показателей крови больных с гастродуоденальным кровотечением // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.** – 2014. – № 11. – С. 82.
8. Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Капкаева Р.Х., Мишанина Л.С., Солдатова А.А. Изменения пристеночной микробиоты при заболеваниях желудка // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.** – 2016. – № 2, вып. 126. – С. 116
9. Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Стенина М.А., Капкаева Р.Х., Мишанина Л.С. Взаимосвязь уровня иммуноглобулина Е и пепсиногенов при хроническом гастрите // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.** – 2016. – № 2, вып. 126. – С. 116-117
10. Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Капкаева Р.Х. Иммунорегуляция гастритического процесса // **Медицинская иммунология.** – 2017. – Т. 19, спец. выпуск. – С. 257.
11. Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Капкаева Р.Х. Способы иммунодиагностики заболеваний желудка // **Медицинская иммунология.** – 2017. – Т. 19, спец. выпуск. – С. 258.

### *Статьи и тезисы в других журналах*

12. Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Капкаева Р.Х., Мишанина Л.С., Солдатова А.А. Factor risks for gastric ulcer // **Гастроэнтерология Санкт-Петербурга.** – 2016. – № 1-2. – С. М42.
13. Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Капкаева Р.Х., Мишанина Л.С. Выявляемость *Helicobacter pylori* при атрофическом процессе // **Гастроэнтерология Санкт-Петербурга.** – 2016. – № 1-2. – С. М21.
14. Капкаева Р.Х., Кузнецова Р.Ю., Матвеева Л.В., Мишанина Л.С., Мосина Л.М. Изменения мукозальной микробиоты желудка и толстого кишечника при язвенной болезни желудка // **Огарев-online.** – 2017. – №7. – URL: <http://journal.mrsu.ru/arts/izmeneniya-mukozalnoj-mikrobioty-zheludka-i-tolstogo-kishechnika-pri-yazvennoj-bolezni-zheludka>

### *Статьи и тезисы в сборниках*

15. Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Капкаева Р.Х., Солдатова А.А. Иммуно-секреторные взаимосвязи при хроническом гастрите // **Материалы VIII Нац. конгресса терапевтов.** – М.: ООО «Бионика Медиа», 2013. – С. 181-182.

16. Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Капкаева Р.Х. Пепсиногено-цитокиновые корреляции при обострении язвенной болезни желудка // Актуальные проблемы медицинских наук: сб. науч. тр. II Всерос. студ. науч. форума. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2013. С. 48-49.
17. Капкаева Р.Х., Солдатова А.А., Горяев В.М., Митина Е.А., Мишанина Л.С., Матвеева Л.В., Мосина Л.М. Серологические маркеры микст-инфекций при заболеваниях желудка // Актуальные проблемы медико-биологических дисциплин: Сб. науч. тр. III Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2014. С. 64-65.
18. Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Митина Е.А., Мишанина Л.С., Солдатова А.А., Капкаева Р.Х., Горяев В.М. Изменения интерлейкинов сыворотки крови при патологических процессах в слизистой оболочке желудка // Актуальные проблемы медицинских наук: Сб. материалов III Межрегион. студ. науч. форума. – Саранск, 2014. – С. 68-69.
19. Матвеева Л.В., Солдатова А.А., Горяев В.М., Капкаева Р.Х., Митина Е.А., Мишанина Л.С., Мосина Л.М. Инфекционные серологические маркеры при заболеваниях желудка // Актуальные проблемы медицинских наук: Сб. материалов III Межрегион. студ. науч. форума. – Саранск, 2014. – С. 30-31.
20. Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Митина Е.А., Мишанина Л.С., Солдатова А.А., Капкаева Р.Х., Горяев В.М. Изменения интерлейкинов периферической крови при патологических процессах в слизистой оболочке желудка // Актуальные проблемы медицинских наук: Сб. материалов III Межрегион. студ. науч. форума. – Саранск, 2014. – С. 32-34.
21. Матвеева Л.В., Капкаева Р.Х., Солдатова А.А., Мишанина Л.С., Мамаева Т.К. Взаимосвязь изменений пепсиногенов и цитокинов при обострении язвенной болезни желудка // Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье: Тезисы XVIII Международной медико-биологической конференции. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2015. – С. 325-326.
22. Игонькина Е.А., Мишанина Л.С., Капкаева Р.Х., Солдатова А.А. Состояние микробиоты желудка у клинически здоровых лиц // Материалы Всерос. науч. конф. студ. и мол. спец. «Актуальные вопросы современной медицины: взгляд молодого специалиста». – Рязань: РИО РязГМУ, 2015. – С. 141.
23. Матвеева Л.В., Капкаева Р.Х., Мишанина Л.С. Изменения состава желудочной микробиоты при заболеваниях гастродуоденальной зоны // Материалы заочной науч.-практ. Всерос. межвуз. конф. студ. и мол. уч. «Современная микробиология: взгляд молодого ученого». – Оренбург, ГБОУ ВПО ОрГМУ Минздрава РФ, 2015. – С. 31-34.
24. Солдатова А.А., Мишанина Л.С., Капкаева Р.Х. Хеликобактерии в микробиоте желудка при хроническом гастрите // Тезисы докладов XVII Тихоокеанской науч.-практ. конф. студ. и мол. уч. с междунар. участием «Актуальные проблемы экспериментальной, профилактической и клинической медицины». – 2016. – С. 273-274.
25. Матвеева Л.В., Капкаева Р.Х., Мишанина Л.С., Мосина Л.М. Изменения субпопуляций лимфоцитов с цитотоксическим потенциалом при хроническом гастрите // Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарные проблемы: материалы межрегион. форума с международным участием. – Казань, 2016. – С. 88-89.

***Патенты, рационализаторские предложения***

26. Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Капкаева Р.Х. Способ иммунодиагностики заболеваний гастродуоденальной зоны. Патент №2677228 Россия, МПК G01N 33/53 – 2017142909. Оpubл. 16.01.2019 г. Бюлл. 2. Приоритет 08.12.2017 г.

# ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ИММУНОДИАГНОСТИКА *HELICOBACTER PYLORI*-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ЗОНЫ

Капкаева Регина Харисовна  
(Россия)

Диссертационное исследование посвящено дифференциальной иммунодиагностике *Helicobacter (H.) pylori*-ассоциированных хронического гастрита, язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки. Актуальность работы обусловлена высокой распространенностью, клинической, социально-экономической значимостью заболеваний, патогенетически связанных с *H. pylori*. У пациентов с заболеваниями гастроудоденальной зоны оценивали системные иммунные реакции, определяли обсеменность слизистой оболочки *H. pylori*, устанавливали корреляционные взаимосвязи между иммунными изменениями, маркерами *H. pylori*-инфекции, морфофункциональными нарушениями. Согласно полученным результатам, при *Helicobacter pylori*-ассоциированных заболеваниях гастроудоденальной зоны иммунные изменения: увеличение количества и цитотоксичности нейтрофильных гранулоцитов, количества естественных киллеров, CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов, дисиммуноглобулинемия, накопление циркулирующих иммунных комплексов, определяются локализацией и характером патологического процесса, более выражены при язвенной болезни желудка. Установлено, что при язвенной болезни желудка, ассоциированной с *H. pylori*, сывороточные уровни IL-8 превышают дискриминационный уровень в 100%, VEGF – в 80%, IFN- $\alpha$  – в 73,3% случаев. Предложен алгоритм дифференциальной иммунодиагностики *H. pylori*-ассоциированных гастроудоденальных заболеваний. Разработаны способ иммунодиагностики и прогностические модели осложненного течения хронического гастрита, язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки на основе оценки количества сывороточных цитокинов и других иммунных факторов.

## DIFFERENTIAL IMMUNODIAGNOSTICS OF *HELICOBACTER PYLORI*-ASSOCIATED DISEASES OF THE GASTRODUODENAL ZONE

Капкаева Регина Харисовна  
(Russia)

The dissertation research is devoted to differential immunodiagnosis of *Helicobacter (H.) pylori*-associated chronic gastritis, gastric ulcer, and duodenal ulcer. The relevance of the work is due to the high prevalence, clinical, socio-economic significance of diseases pathogenetically associated with *H. pylori*. In patients with diseases of the gastroduodenal zone, systemic immune responses were evaluated, the contamination of the *H. pylori* mucosa was determined, and correlations between immune changes and markers of *H. pylori* were established. *pylori* infections with morphofunctional disorders. The results obtained with *Helicobacter pylori*-associated diseases in the gastroduodenal immune changes: increase the quantity and cytotoxicity of neutrophils, the number of natural killer cells, CD4<sup>+</sup>-lymphocytes, disimmunoglobulinemia, the accumulation of circulating immune complexes, determined by the location and nature of the pathological process, more pronounced in the gastric ulcer. It was found that in gastric ulcer associated with *H. pylori*, serum levels of IL-8 exceed the discriminatory level in 100%, VEGF – in 80%, and IFN- $\alpha$  – in 73.3% of cases. An algorithm for differential immunodiagnosis of *H. pylori*-associated gastroduodenal diseases is proposed. The method of immunodiagnosics and prognostic models of complicated course of chronic gastritis, gastric ulcer, duodenal ulcer were developed based on the assessment of the amount of serum cytokines and other immune factors.