

На правах рукописи

Чупрынова Мария Юрьевна

**ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ HELICOBACTER PYLORI-
АССОЦИИРОВАННОГО ГАСТРИТА У ПОДРОСТКОВ ПРИ
ИНФИЦИРОВАНИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ВИРУСОМ
ЭПШТЕЙНА-БАРР**

14.01.08 – педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук

Красноярск – 2014

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Потрохова Елена Александровна**

Официальные оппоненты:

Поливанова Тамара Владимировна, доктор медицинских наук, ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» СО РАМН, заведующий клиническим отделением патологии пищеварительной системы у детей, г. Красноярск

Решетник Любовь Александровна, доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующий кафедрой детских болезней, г. Иркутск

Ведущая организация: ГБОУ ВПО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Хабаровск.

Защита диссертации состоится «18» сентября 2014 г. в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 208.037.01 на базе ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России по адресу 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, <http://www.krasgmu.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2014 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент

Штарик Светлана Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Проблема *H. pylori*-ассоциированных состояний в настоящее время хорошо освещена. Глубоко изучен патогенез заболеваний, связанных с *H. pylori*. Помимо хронического неатрофического гастрита и язвенной болезни, *H. pylori* имеет значение в возникновении таких грозных заболеваний, как аденокарцинома желудка и MALT – лимфома. Проведение эрадикационной терапии с использованием современных высокоэффективных схем, позволяет не только достигнуть эрадикации инфекта у большого процента пациентов, что в большинстве случаев сопровождается регрессом мононуклеарного инфильтрата собственной пластинки СОЖ и исчезновением клинической симптоматики, но и рассматривается в качестве канцеропреентивного фактора (Аруин Л. И., 1997; L. Zhou et al., 2003).

Однако *H. pylori* не единственный микроорганизм, чье патологическое действие может приводить к значительным изменениям в органах и тканях желудочно-кишечного тракта. На сегодняшний день важными претендентами на роль альтернативного возбудителя гастрита являются представители семейства герпес-вирусов и, в частности, вирус Эпштейна-Барр (В. А. Крулевский и др., 2009; В. Н. Нелюбин, 2011; M. G. Cardenas-Mondragon et al., 2013). Персистенция одновременно двух патогенов в СОЖ возможно могла бы привнести определенные клинические и морфологические особенности в картину *H. pylori* – ассоциированного гастрита.

Широкое внедрение эрадикационной терапии, в том числе и при лечении детей, позволило также выявить проблему развития эксхеликобактерного гастрита, при котором даже после удаления инфекта хроническое воспаление СОЖ не исчезает вместе с элиминацией возбудителя, и сохраняется риск рецидива клинических симптомов в течение года (А. В. Кононов, 2002; А. В. Кононов и др., 2005; S. Akira et al., 2006). Причины данного состояния до настоящего времени не ясны. Выявление возможных факторов риска неблагоприятного течения постэрадикационного периода *H. pylori* –

ассоциированного гастрита у подростков, позволило бы улучшить диагностику и прогноз заболевания.

Цель исследования

Оценить влияние ВЭБ на течение *H. pylori* – ассоциированного гастрита у подростков для усовершенствования системы наблюдения за данной категорией пациентов.

Задачи исследования

1. Выявить особенности течения *H. pylori* – ассоциированного гастрита у подростков с персистирующей в СОЖ ВЭБ инфекцией.

2. Изучить влияние полиморфизма гена TLR9 T-1237C на инфицирование СОЖ ВЭБ.

3. Выявить факторы риска неблагоприятного исхода *H. pylori* – ассоциированного гастрита у подростков, сопровождающегося персистенцией воспалительного инфильтрата в СОЖ в течение 12 месяцев после эрадикации инфекта.

4. Усовершенствовать алгоритм наблюдения за подростками с *H. pylori* – ассоциированным гастритом в зависимости от наличия или отсутствия ВЭБ в СОЖ.

Научная новизна работы

В исследовании показано, что инфицирование ВЭБ СОЖ у подростков с *H. pylori* – ассоциированным гастритом чаще происходит при носительстве полиморфного гена –1237ТС TLR9 и не имеет каких-либо клинических и морфологических особенностей.

Период после эрадикации *H. pylori* характеризуется альтернативными вариантами течения: с регрессом воспалительного инфильтрата и преобладанием в клинической картине синдрома функциональной диспепсии или персистенцией воспалительного инфильтрата, сопровождающейся клиническими симптомами кислотозависимых заболеваний.

Подростки, у которых в постэрадикационном периоде *H. pylori* – ассоциированного гастрита отмечается персистенция воспаления в СОЖ,

характеризуются дисфункцией вегетативной нервной системы.

Фактором риска неблагоприятного течения постэрадикационного периода *H. pylori* – ассоциированного гастрита у подростков является инфицирование ВЭБ клеток воспалительного инфильтрата с увеличением в них экспрессии белка bcl-2, ответственного за иммортализацию клеток.

Исход *H. pylori* – ассоциированного гастрита у подростков не зависит от полиморфизма гена TLR9 T-1237C.

Теоретическая и практическая значимость

Определение полиморфизма гена TLR9 T-1237C помогает прогнозировать риск инфицирования СОЖ ВЭБ. Предложенный усовершенствованный алгоритм наблюдения, основанный на выявлении персистирующей в СОЖ ВЭБ инфекции у подростков с *H. pylori* – ассоциированным гастритом, позволит прогнозировать течение постэрадикационного периода и выявить группу риска по развитию эксхеликобактерного гастрита.

Результаты настоящего исследования используются в лекционном курсе и практических занятиях кафедры педиатрии ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия», лечебной работе БУЗ ОО ГДКБ №2 имени В.П. Бисяриной города Омска. По результатам исследования подготовлены методические рекомендации для врачей-педиатров, детских гастроэнтерологов «Алгоритм наблюдения за подростками с *Helicobacter pylori* – ассоциированным гастритом».

Работа выполнена по плану НИР ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России в рамках государственного задания «Разработка персонифицированного прогноза рака желудка у больных с *Helicobacter pylori* - инфекцией на основе панели биомаркеров» (№ гос. регистрации 01201251439).

Положения, выносимые на защиту

1. Персистирующая в СОЖ инфекция ВЭБ у подростков с *H. pylori* –

ассоциированным гастритом не имеет каких-либо клинических и морфологических особенностей.

2. Риск неблагоприятного течения постэрадикационного периода у подростков с *H. pylori* – ассоциированным гастритом, сопровождающегося сохранением воспалительного инфильтрата в СОЖ после уничтожения инфекта, значительно возрастает при инфицировании ВЭБ клеток воспалительного инфильтрата с увеличением в них экспрессии антиапоптотического белка bcl-2, и не зависит от полиморфизма гена TLR9 T-1237C.

Степень достоверности и апробация результатов работы. О достоверности результатов работы свидетельствуют достаточный объем выборки, современные и адекватные методы статистической обработки материала с использованием пакета программ Microsoft Excel, STATISTICA® (StatSoft Inc.) версии 6.1 (лицензионный номер программного продукта BXXR904E306823FAN10), «Biostat». Основные результаты диссертации доложены и обсуждены на: I-м Съезде врачей общей врачебной практики (семейных врачей) Сибирского федерального округа «Общая врачебная практика (семейная медицина) в Сибири: проблемы и решения» (г. Омск, 2010 г.); Всероссийской научно-практической конференции «Социальные аспекты проблем детского туберкулеза» (г. Омск, 2011 г.); Всероссийской научной школе «Превентивная медицина: вызовы XXI века» (г. Омск, 2011 г.); Конкурсе молодых ученых XVI Конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (диплом III степени за стендовый доклад) (г. Москва, 2012 г.); научно-практической конференции педиатров России «Фармакотерапия и диетология в педиатрии». (г. Красноярск, 2012 г.); региональной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения академика В.П. Бисяриной «Актуальные вопросы педиатрии» (г. Омск, 2012 г.); V-й научной конференции молодых ученых ОмГМА «Итоговая сессия аспирантов выпускного года обучения». (г. Омск, 2013 г.); конкурсе научных работ молодых ученых XVII Съезда педиатров России «Актуальные

проблемы педиатрии» (г. Москва, 2013 г.); региональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы гастроэнтерологии в практике врача-педиатра» (г. Омск, 2013 г.); научно-практической конференции, посвященной 50-летию БУЗОО «ГДКБ№3» «Современная медицина: диагностика, лечение, профилактика в педиатрии и детской хирургии» (г. Омск, 2013 г.).

Публикации

По результатам диссертации опубликовано 11 научных статей, из них в журналах по перечню ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации – 5, 1 методические рекомендации для врачей-педиатров и детских гастроэнтерологов .

Личный вклад автора

Автором были выполнены следующие этапы работ: анализ данных отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, формулировка цели и задач исследования, разработка методологии его выполнения. Личное участие автора заключалось в клиническом обследовании пациентов, математической обработке и статистическом анализе полученных результатов, написании текста диссертации и публикаций в соавторстве.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 131 странице печатного текста, иллюстрирована 33 таблицами и 10 рисунками. Состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований, главы «Обсуждение полученных результатов», выводов и списка литературы, включающего 157 литературных источников, в том числе 106 публикаций в зарубежных журналах (изданиях).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось с 2009 по 2012 год на базе педиатрического отделения БУЗ ОО ГДКБ №2 имени В.П. Бисяриной г. Омска. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России (протокол № 36 от 26.01.2011 г.).

Объекты исследования - 104 подростка мужского и женского пола в возрасте от 10 до 18 лет, госпитализированные с жалобами, соответствующими предварительному диагнозу «Желудочная диспепсия».

В ходе работы были определены 2 исследовательские точки (рис. 1).

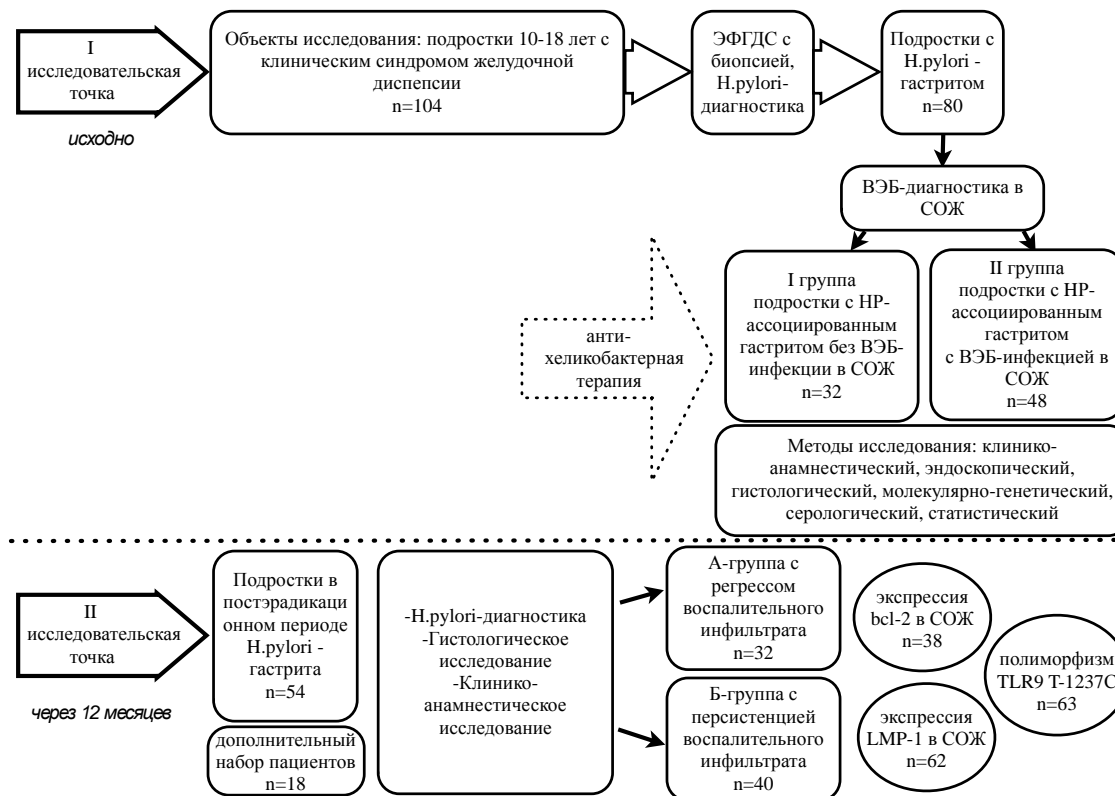


Рисунок 1. Дизайн исследования.

На первом этапе исследования клинически у всех пациентов был выставлен диагноз *H. pylori*- ассоциированного хронического гастрита.

В зависимости от наличия или отсутствия ВЭБ в слизистой оболочке желудка, выявляемого методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), у подростков с *H. pylori* инфекцией были сформированы группы сравнения:

- I группа - подростки с *H. pylori*-ассоциированным гастритом без ВЭБ инфекции в СОЖ (32);
- II группа - подростки с *H. pylori*-ассоциированным гастритом с ВЭБ инфекцией в СОЖ (48).

Критериями включения в исследование на первом этапе являлись: 1) возраст 10-18 лет, 2) европеоидная раса, 3) клинически синдром желудочной

диспепсии, 4) наличие персистирующей в СОЖ *H. pylori*-инфекции, 5) информированное добровольное согласие родителей или ребенка (при достижении 15 лет) на участие в исследовании.

Критериями исключения из исследования на первом этапе являлись: 1) отказ от участия в исследовании, 2) наличие сопутствующих заболеваний, способных оказать влияние на течение основной патологии (системные заболевания, воспалительные заболевания кишечника, острые инфекционные заболевания, вирусные гепатиты и т.д.), 3) отсутствие персистирующей в СОЖ *H. pylori*-инфекции, 4) прием антисекреторных и антибактериальных препаратов в течение предшествующих 4х недель.

Всем пациентам, у которых была выявлена *H. pylori* инфекция, в случае согласия родственников, проводилась антихеликобактерная терапия в соответствии с «Российскими рекомендациями по диагностике и лечению инфекции *H. pylori* у детей» и международным консенсусом «Маастрихт III» (В. А. Исаков, П. Л. Щербаков, 2002; И. А. Морозов и др., 2001; F. Maná, 2009).

Вторая исследовательская точка соответствовала 12 месяцам после проведенной антихеликобактерной терапии и обосновывалась данными литературы, свидетельствующими о сроках регресса инфильтрата после удаления инфекта (6-12 месяцев) (Л. И. Аруин, 1998). На данном этапе из исследования были исключены пациенты, у которых *H. pylori* обнаруживался хотя бы в одном из трех диагностических методов (гистобактериоскопия, ПЦР, быстрый уреазный HELPII-тест). Таким образом, число подростков, соответствующих критериям включения на втором этапе исследования, составило 54 человека. При расчете необходимого минимального объема выборки выявилась ее недостаточная репрезентативность, в связи с чем был произведен дополнительный набор пациентов в соответствии с критериями включения в количестве 18 человек.

На основании результатов морфологического исследования биоптатов

СОЖ (наличие или отсутствие мононуклеарного инфильтрата в слизистой оболочке тела и/или антрального отдела желудка) на втором этапе исследования были сформированы группы сравнения:

- А группа: подростки с минимальными морфологическими изменениями слизистой оболочки желудка в постэрадикационном периоде Н. pylori - ассоциированного гастрита по данным гистологического исследования СОЖ (32 пациента), (степень воспаления -/+).

- Б группа: подростки с наличием воспалительного инфильтрата в СОЖ в постэрадикационном периоде Н. pylori - ассоциированного гастрита по данным гистологического исследования (40 пациентов), (степень воспаления ++/+++).

Клиническое исследование включало детализацию жалоб, подробный сбор анамнеза, физикальное обследование, комплекс лабораторных и инструментальных методов в соответствии с медико-экономическими стандартами.

Из инструментальных методов применялись фиброгастродуоденоскопия с прицельной биопсией слизистой оболочки желудка, ультразвуковое исследование органов пищеварительной системы, [суточная рН-метрия](#) (для подтверждения диагноза гастроэзофагеальной рефлюксной болезни) на аппарате "[Гастроскан-ГЭМ](#)" (НПП "[Исток-Система](#)", Россия).

Эндоскопическое исследование верхних отделов пищеварительного тракта проводилось на аппаратах фирмы «Olympus» GIF-XPE, GIF-Q150 (Япония) и сопровождалось прицельной биопсией слизистой оболочки тела и антрального отдела желудка (по 4 кусочка).

Гистологическое исследование биоптатов проводилось по стандартной методике с окраской гематоксилин-эозином¹. Оценка морфологических изменений СОЖ проводилась с использованием разработанной на основе

¹ Автор выражает благодарность заведующей патоморфологическим отделом БУЗ ОО «КДЦ» к.м.н., врачу-патологоанатому высшей квалификационной категории Т. В. Васькиной за выполнение гистологического исследования и оформление патологоанатомического заключения по гастробиоптатам.

Сиднейской системы классификации хронического гастрита (А. В. Price, 1991) визуально-аналоговой шкалы для полуколичественного определения признаков - отсутствие признака, слабая, умеренная и выраженная степень проявления признака (М. F. Dixon et al., 1996). Оценивали такие признаки как, степень обсемененности *H. pylori*, активность процесса, выраженность воспаления, наличие атрофии и кишечной метаплазии. Для выявления инфекции *H. pylori* применяли: гистобактериосокопический метод с окраской биоптатов по методу Гимзе, метод ПЦР с использованием набора реагентов «Хеликопол» (НПФ «Литех», Москва), быстрый уреазный HELPII-тест («Синтана СМ», С. Петербург).

Диагностику ВЭБ в слизистой оболочке желудка, а также сыворотке крови проводили с помощью метода ПЦР с использованием реагентов фирмы «AmpliSens» ФГУН ЦНИИЗ Роспотребнадзора (Россия). Для серологической диагностики ВЭБ с целью определения антител разных классов в сыворотке крови использовали метод иммуноферментного анализа (реактивы «Вектор Бест», Новосибирск: ВектоВЭБ – NA – IgG, ВектоВЭБ – EA – IgG, ВектоВЭБ – VCA – IgM).

Иммуногистохимическое исследование (непрямой вариант) гастробиоптатов выполняли с целью определения экспрессии антиапоптотического белка bcl-2 с использованием моноклональных мышинных антител к белку bcl-2 (клон 124, «Дако», Дания), а также белка LMP-1 вируса Эпштейна-Барр (клон CS. 1-4, «Дако», Дания)².

Молекулярно-генетическое исследование проводилось для изучения полиморфизма гена TLR9 T-1237C с помощью праймеров, синтезированных в институте химической биологии и фундаментальной медицины (Новосибирск)³. Соответствие распределения генотипов TLR9 уравнению Харди-Вайнберга

² Автор выражает благодарность д.м.н., профессору кафедры паталогической анатомии с курсом клинической патологии ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России

С. И. Мозговому за проведение иммуногистохимического исследования.

³ Автор выражает благодарность заведующей лабораторией кафедры паталогической анатомии с курсом клинической патологии ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России д.б.н., доценту Е.Г. Поморгайло за проведение генетического исследования.

оценивалось с помощью он-лайн калькулятора, доступного по адресу <http://www.genes.org.uk/software/hardy-weinberg.shtml>.

Для статистической обработки результатов исследования использовали методы описательной и вариационной статистики (С. Гланц, 1998; О. Ю. Реброва, 2002).

Определялся тип распределения изучаемых переменных, который отличался от нормального. В качестве основных характеристик описательной статистики использовались медиана, нижний 25-й (L) и верхний 75-й (H) квартили.

Для анализа достоверности различий между группами формулировался наиболее распространенный тип статистического вывода – доказательство того, что найденные различия между двумя выборками неслучайны, и, следовательно, отражают действительные различия между двумя генеральными совокупностями.

Для сравнительного анализа качественных показателей в группах пациентов использовали метод хи-квадрат (χ^2), точный критерий Фишера (для выборки малых размеров), количественных показателей - непараметрический критерий Манна – Уитни (U), а также критерий Вальда-Вольфовица (Z).

Пороговая величина вероятности ошибки при проверке нулевой гипотезы устанавливалась на уровне, равном $p < 0,05$. Для выявления факторов риска инфицирования слизистой оболочки желудка ВЭБ, а также неблагоприятного течения постэрадикационного периода (эксхеликобактерного гастрита) были проведены вычисления специфичности и чувствительности признаков, имеющих достоверно значимые различия, а также расчет отношения шансов.

Для расчетов использован статистический пакет Microsoft Excel, программное обеспечение STATISTICA® (StatSoft Inc.) версии 6.1 (лицензионный номер программного продукта BXXR904E306823FAN10), «Biostat».

Результаты исследования и их обсуждение

Молекулярно-генетические факторы риска инфицирования слизистой оболочки желудка вирусом Эпштейна-Барр

По данным нашего исследования инфицированность подростков ВЭБ приближается к 100% (84% и 92% в I и II группе, соответственно), но персистенция вируса в СОЖ обнаруживалась только у 60% детей. Для выявления вероятного фактора риска инфицирования ВЭБ мукозального эпителия был исследован полиморфизм гена TLR9 в точке T – 1237C, выбор которого основывался на его роли в первичном распознавании вирусов и запуске противовирусного иммунного ответа (K. W. Boehme, T. Compton, 2004; V. Levitsky, M. G. Masucci, 2002).

При сравнительном анализе частот встречаемости генотипов TLR9 (T–1237C) у 50 подростков с наличием и отсутствием ВЭБ в СОЖ была выявлена ассоциация мукозальной персистенции ВЭБ с генотипом T/C ($p=0,05$; ОШ 5,52; ДИ 95%: 0,99; 30,81; Sc 44,12%, Sp 87,5%; рис. 2).

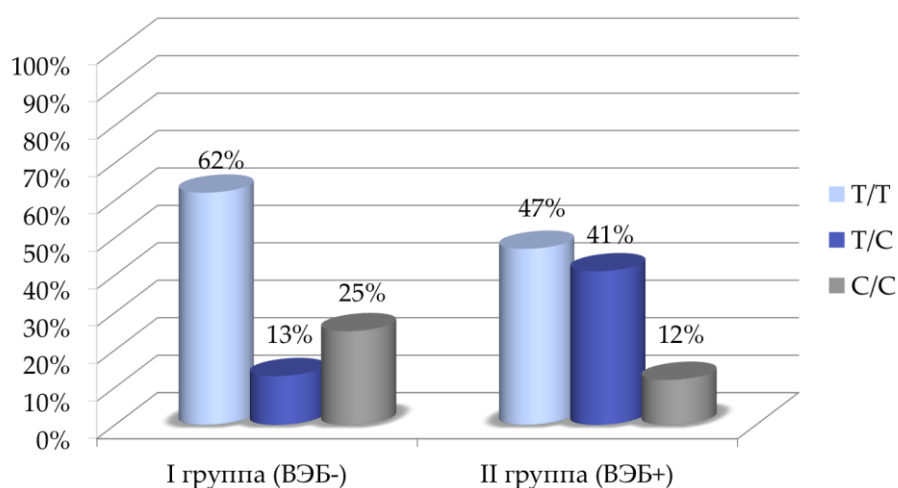


Рисунок 2. Распределение генотипов полиморфного локуса T–1237C гена TLR9 в группах подростков с наличием и отсутствием ВЭБ в слизистой оболочке желудка ($p=0,05$).

Таким образом, генотип –1237TC TLR9 можно рассматривать в качестве фактора риска проникновения ВЭБ в СОЖ.

Особенности течения *H. pylori* – ассоциированного гастрита у подростков при инфицировании СОЖ ВЭБ

При детальном изучении анамнестических данных было выявлено, что большинство подростков в группах с наличием и отсутствием ВЭБ в СОЖ имели неблагоприятную наследственность по патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта (16/32 и 29/48 – в I и II группах, соответственно, $\chi^2 = 0,476$, $p = 0,490$). Среди заболеваний родственников подростков отмечались хронический неатрофический гастрит, язвенная болезнь, рак желудка, которые встречались с одинаковой частотой в сравниваемых группах (3/32 и 2/48 – в I и II группах, соответственно, $p = 0,384$). Продолжительность заболевания у детей была сопоставима в обеих группах и составила в среднем 2 (0,5; 3) года. Манифестация симптомов в группе с мукозальной локализацией ВЭБ, происходила несколько раньше, в среднем с 10 лет, а в группе без ВЭБ - с 12 лет ($p = 0,113$).

Ashish Saxena с соавт. (2008 г.) отмечают, что одновременное инфицирование СОЖ ВЭБ и *H. pylori* достоверно чаще обнаруживается при раке желудка и язвенной болезни желудка и ДПК в сравнении с неязвенной диспепсией. В проведенном нами исследовании подобных различий выявлено не было. Такие нозологические формы, как функциональная диспепсия (24/32 и 40/48 - в I и II группах, соответственно; $\chi^2 = 0,394$, $p = 0,530$), ГЭРБ (6/32 и 7/48 в I и II группах, соответственно; $\chi^2 = 0,034$, $p = 0,853$), гастрит/дуоденит с эрозиями (3/32 и 5/48 в I и II группах, соответственно; $p = 1,000$), язвенная болезнь ДПК (4/32 и 4/48 в I и II группах, соответственно; $p = 0,707$), диагностировались с одинаковой частотой в группах пациентов с моноинфекцией *H. pylori* и в сочетании с ВЭБ в СОЖ.

В клинической картине обследованных подростков присутствовали болевой, диспепсический и астено-вегетативный синдромы, частота встречаемости которых не зависела от присутствия ВЭБ в СОЖ (табл.1).

Таблица 1

Клинические синдромы у подростков групп сравнения

Клинические синдромы	I группа n=32		II группа n=48		p
	абс.	доля	абс.	доля	
Болевой	28	0,88	45	0,94	$\chi^2=0,320$ p=0,572
Диспепсический	20	0,63	39	0,81	$\chi^2=2,585$ p=0,108
Астено-вегетативный	15	0,47	21	0,44	$\chi^2=0,002$ p=0,963

Примечание: n – количество пациентов, p – достоверность различий между группами (критерий χ^2)

Наиболее характерной жалобой у обследованных подростков были абдоминальные боли, интенсивность которых варьировала от слабой до выраженной (рис. 3), и которые по локализации, характеру, частоте и выраженности не отличались в сравниваемых группах. Диспепсические проявления встречались реже и были представлены отрыжкой, чувством раннего насыщения, переполнения желудка, нарушением аппетита и стула с одинаковой частотой в I и II группах (рис. 4).

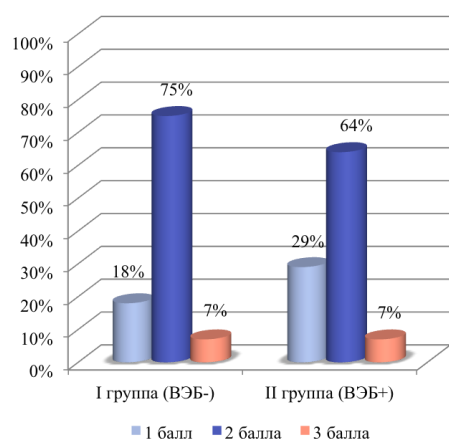


Рисунок 3. Интенсивность болевого синдрома в сравниваемых группах ($p>0,05$).

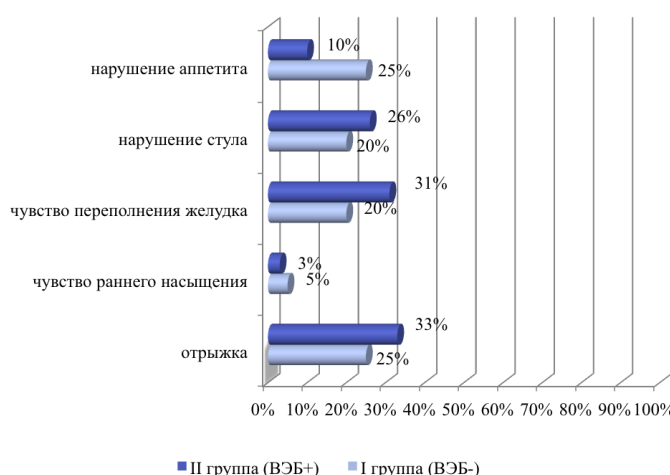


Рисунок 4. Характеристика диспепсического синдрома в сравниваемых группах ($p>0,05$).

По данным эндоскопического исследования в большинстве случаев отмечено сочетанное поражение СОЖ и ДПК, в единичных случаях диагностировались эрозивно-язвенные поражения гастродуоденальной зоны, дуодено-гастральный и гастроэзофагеальный рефлюксы вне зависимости от наличия или отсутствия ВЭБ в СОЖ (табл. 2).

Таблица 2

Структура поражения гастродуоденальной зоны у подростков групп сравнения по данным фиброгастродуоденоскопии

Варианты гастродуоденальной патологии	I группа n=32		II группа n=48		p
	абс	доли	абс	доли	
Нет изменений	3	0,09	0	0	p=0,06
Гастрит:	29	0,90	48	1	$\chi^2= 2,439$ p= 0,118
• гастрит тела	3	0,10	3	0,06	p= 0,667
• антрум-гастрит	6	0,21	12	0,25	$\chi^2= 0,024$ p= 0,877
• пангастрит	20	0,69	33	0,69	$\chi^2= 0,055$ p= 0,815
Эрозии антрального отдела желудка	2	0,06	4	0,08	p= 1,000
Эрозии двенадцатиперстной кишки	2	0,06	1	0,02	p= 0,561
Язва ДПК	4	0,125	4	0,08	p= 0,707
Дуоденит	28	0,88	45	0,94	$\chi^2= 0,320$ p= 0,572
Дуоденогастральный рефлюкс	3	0,09	3	0,06	p= 0,679
Гастроэзофагеальный рефлюкс	6	0,19	8	0,17	$\chi^2= 0,004$ p= 0,952

Примечание: n – количество пациентов, p – достоверность различий между группами (критерий χ^2 , точный критерий Фишера).

При сравнительном анализе морфологических параметров состояния слизистой оболочки антрального отдела и тела желудка не было отмечено каких-либо статистически значимых отличий у подростков групп сравнения (рис. 5, 6).

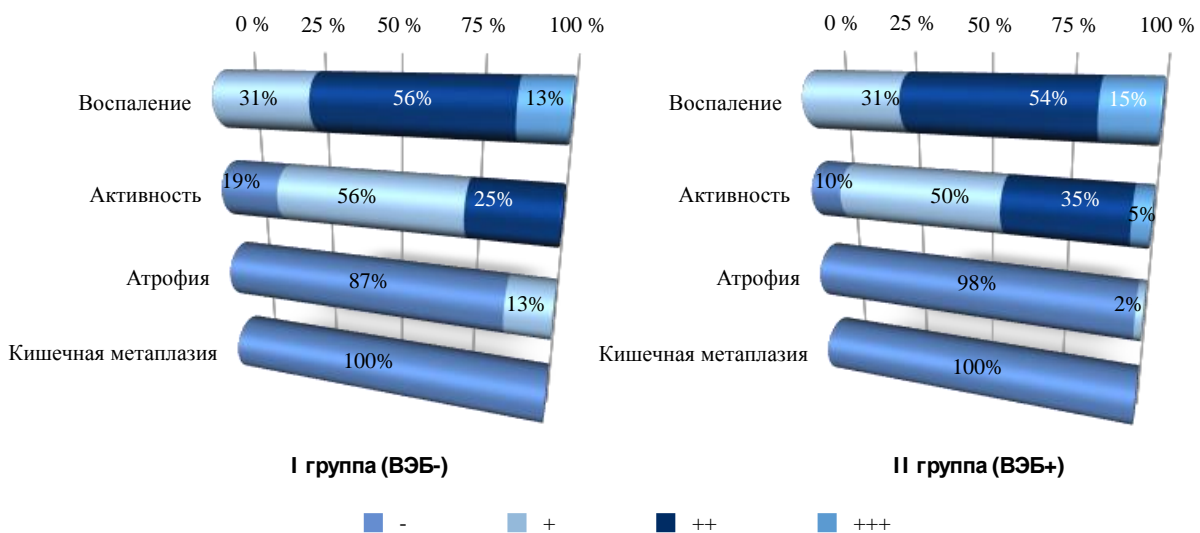


Рисунок 5. Морфологические параметры состояния слизистой оболочки антрального отдела желудка в группах сравнения ($p > 0,05$).

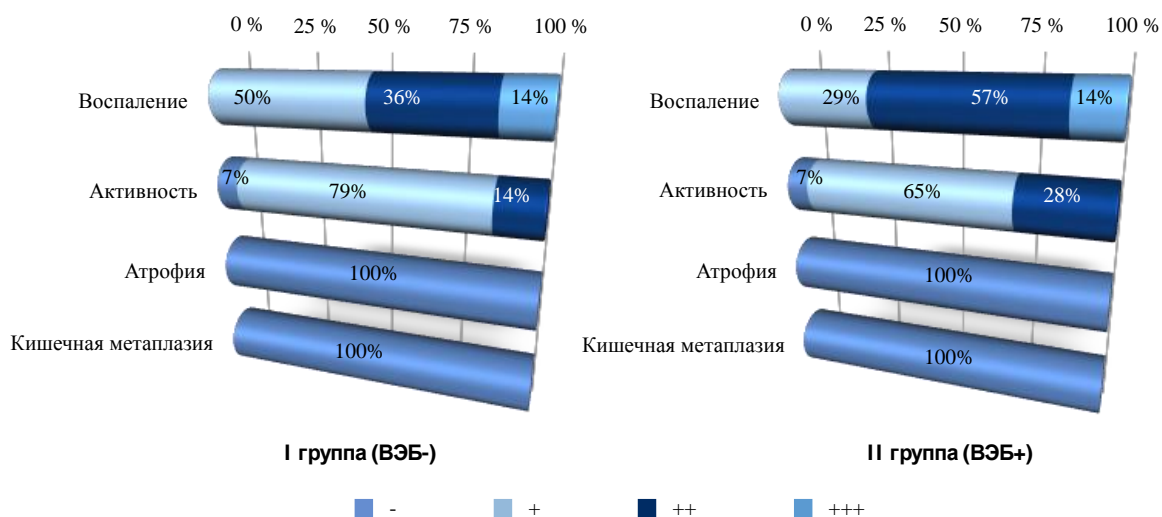


Рисунок 6. Морфологические параметры состояния слизистой оболочки тела желудка в группах сравнения ($p > 0,05$).

Таким образом, персистенция ВЭБ в СОЖ у подростков с *H. pylori* – ассоциированным гастритом не сопровождается клинико-эндоскопическими и морфологическими особенностями.

Варианты течения постэрадикационного периода у подростков с *H. pylori* – ассоциированным гастритом, факторы риска неблагоприятного исхода *H. pylori* – ассоциированного гастрита

На втором этапе исследования через 12 месяцев после эрадикации *H. pylori* у большинства подростков отмечалась положительная клиническая и морфологическая динамика (рис.7, 8).

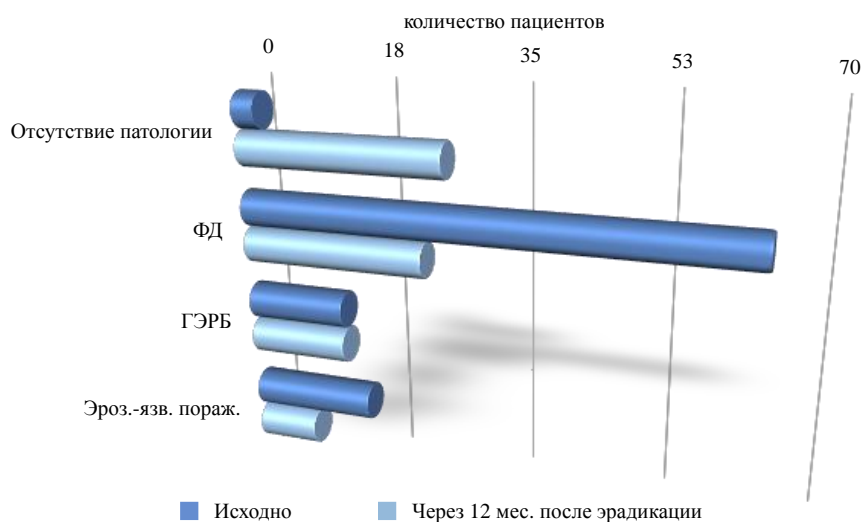


Рисунок 7. Динамика клинико-эндоскопической картины обследованных подростков через 12 месяцев после эрадикации *H. pylori* ($p=0,0001$).

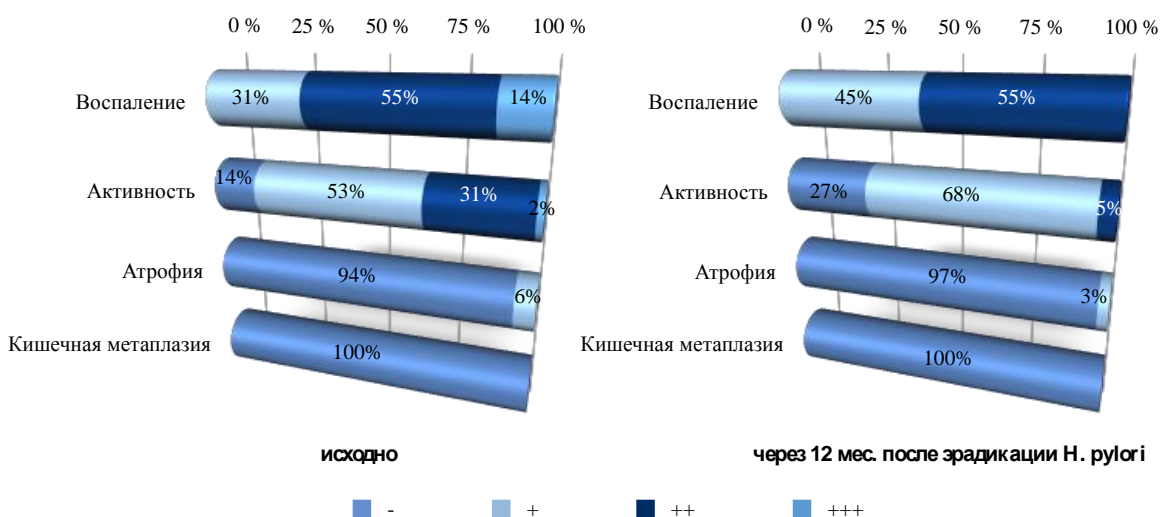


Рисунок 8. Динамика морфологических показателей состояния слизистой оболочки антрального отдела желудка подростков через 12 месяцев после эрадикации *H. pylori*.

Несмотря на это, у некоторых пациентов в постэрадикационном периоде диагностировались функциональная диспепсия, ГЭРБ, а также в ряде случаев отмечен рецидив эрозивно-язвенных поражений слизистой оболочки гастродуоденальной зоны в отсутствии *H. pylori*. Морфологически регресс инфильтрата до оценки его как «минимальный» также произошел не у всех детей.

Согласно дизайну исследования, на втором этапе исследования, подростки были стратифицированы на группы в соответствии с данными

морфологической картины состояния СОЖ: А-группа с регрессом воспалительного инфильтрата (32 пациента); Б-группа с персистенцией воспалительного инфильтрата (40 пациентов). Клинико-эндоскопическая диагностика выявила достоверно значимые различия в группах сравнения. Так, при регрессе воспаления в подавляющем большинстве случаев диагностировалась функциональная диспепсия (17/32), в то время как в случае персистенции воспаления, данные клинической картины и инструментальных методов исследования свидетельствовали о наличии неосложненной ГЭРБ (10/40), гастрита/дуоденита с эрозиями, язвенной болезни ДПК (8/40), то есть кислотозависимых заболеваний ($\chi^2= 11,793$, $p= 0,01$). Обращает на себя внимание различия в частоте встречаемости синдрома вегетативной дистонии с преобладанием его в группе детей с персистенцией воспаления (5/32 и 18/40 - в А и Б группах, соответственно; $\chi^2=5,770$; $p=0,016$).

Неоднократно предпринимались попытки выяснить в каких случаях можно ожидать персистенцию воспаления после удаления инфекта. Рассматривалась роль непрофессиональных антигенпрезентирующих клеток (Е.А. Потрохова, А. В. Кононов, Т. А. Сыкчина, 2005), генетических особенностей макроорганизма и инфекта (Е.Г. Поморгайло, 2012). Доказана роль про- и антиапоптотических внутриклеточных систем в поддержании жизнеспособности клеток воспалительного инфильтрата (Е.А. Потрохова, 2004). С этой позиции, целесообразным является предположить возможную роль ВЭБ в обеспечении иммортализации персистирующего клеточного пула за счет способности вируса сохранять клетки, необходимые для его жизненного цикла (С. В. Coleman et al., 2014).

Методом иммуногистохимии была исследована экспрессия вирусного белка LMP-1 в биоптатах подростков в группах с регрессом и персистенцией воспаления. Достоверно чаще LMP-1 определялся в группе с неблагоприятным течением постэрадикационного периода (с персистенцией воспаления) по сравнению с подростками с полным обратным развитием гастрита через 12 месяцев после эрадикации инфекта (табл. 3).

Таблица 3

Экспрессия вирусного белка вируса Эпштейна-Барр в СОЖ у подростков с регрессом и персистенцией воспалительного инфильтрата

LMP-1 в гастробиоптатах	А группа n=32 абс./доля	Б группа n=30 абс./доля	p
ВЭБ+	15/0,47	26/0,87	p=0,001
ВЭБ-	17/0,53	4/0,13	

Примечание: n – количество пациентов, p – достоверность различий между группами (точный критерий Фишера).

Таким образом, при наличии ВЭБ в СОЖ, риск неблагоприятного течения постэрадикационного периода у подростков возрастает в 7 раз ($p=0,001$; ОШ 7,39; ДИ 95%: 1,95; 27,78; Sc 86,67%, Sp 53,12%).

Для объяснения возможных механизмов влияния ВЭБ на феномен персистенции воспалительного инфильтрата через 12 месяцев после эрадикации *H. pylori*, была исследована экспрессия антиапоптотического белка bcl-2 в клетках воспалительного инфильтрата методом иммуногистохимии. Выбор для исследования именно этого белка был связан с тем, что ВЭБ вырабатывает протеин BHRF1, являющийся гомологом человеческого антиапоптотического белка bcl-2 (S. Henderson et al., 1993). Установлено, что показатели экспрессии bcl-2 в клетках инфильтрата выше в присутствии ВЭБ, как в случае анализа объединенной группы А+Б ($Z= -1,96$; $p= 0,04$, рис. 9), так и отдельно в группе Б (с персистенцией инфильтрата) ($Z=-2,756$; $p=0,005$, рис. 10).

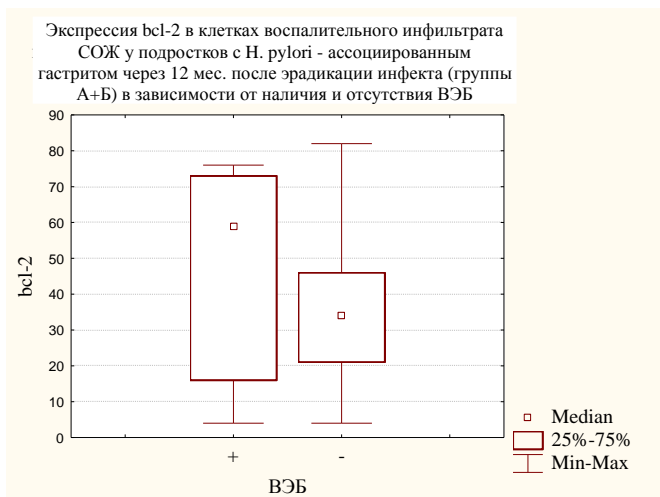


Рисунок 9. Экспрессия bcl-2 в клетках воспалительного инфильтрата СОЖ у подростков с *H. pylori* - ассоциированным гастритом через 12 мес. после эрадикации инфекта (группы А+Б) в зависимости от наличия и отсутствия ВЭБ ($p=0,04$).



Рисунок 10. Экспрессия bcl-2 в клетках воспалительного инфильтрата СОЖ у подростков группы Б (персистенция воспаления) в зависимости от наличия и отсутствия ВЭБ ($p=0,005$).

Таким образом, персистенция ВЭБ в мононуклеарных клетках СОЖ сопровождается увеличением экспрессии в них антиапоптотического белка bcl-2, ответственного за выживаемость клеток воспалительного инфильтрата и формирование эксхеликобактерного гастрита.

В качестве еще одного фактора риска развития эксхеликобактерного гастрита был рассмотрен полиморфизм гена TLR9 в точке T-1237C, для которого была обнаружена ассоциация с инфицированием ВЭБ СОЖ. При исследовании полиморфизма данного гена было отмечено отсутствие связи различных генотипов с течением постэрадикационного периода у подростков (рис. 11).



Рисунок 11. Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса T-1237C гена TLR9 у подростков с различными вариантами течения постэрадикационного периода ($p>0,05$).

Учитывая полученные при исследовании данные, был предложен усовершенствованный алгоритм наблюдения за подростками с *H. pylori* – ассоциированным гастритом, который предполагает диагностику ВЭБ, и, в случае персистенции возбудителя в СОЖ - дополнительное эндоскопическое и морфологическое исследование подростков через 12 месяцев после успешной эрадикации *H. pylori* для своевременной диагностики эксхеликобактерного гастрита (рис. 12).

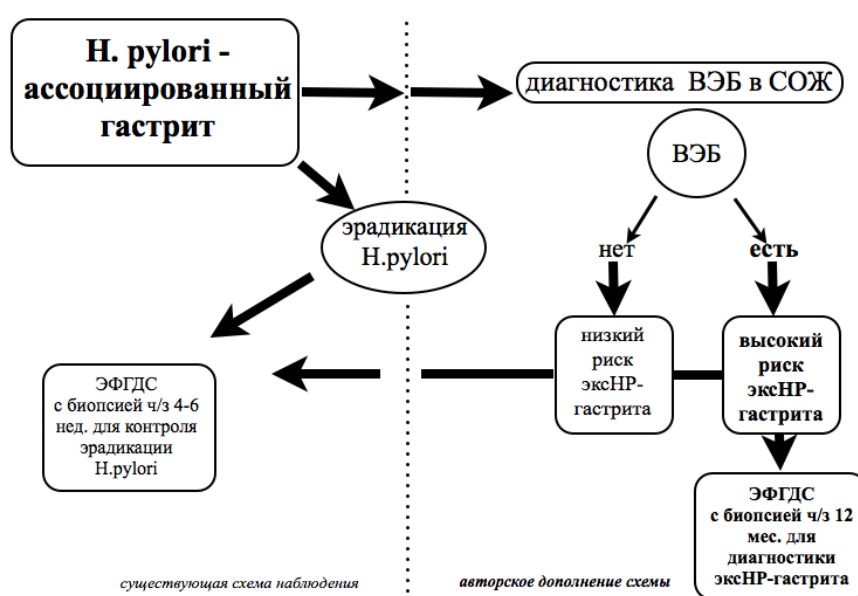


Рисунок 12. Алгоритм наблюдения за подростками с *H. pylori* – ассоциированным гастритом.

ВЫВОДЫ

1. Фактором риска инфицирования СОЖ ВЭБ у подростков является носительство полиморфного гена –1237ТС TLR9 ($p=0,05$; ОШ 5,52; ДИ 95%: 0,99; 30,81; Sc 44,12%, Sp 87,5%).
2. Персистенция ВЭБ в СОЖ у подростков с *H. pylori* – ассоциированным гастритом не сопровождается какими-либо клинико-морфологическими особенностями.
3. Постэрадикационный период *H. pylori* – ассоциированного гастрита у подростков характеризуется двумя вариантами течения:
 - а) благоприятным - с регрессом воспалительного инфильтрата в СОЖ и клинически преобладанием синдрома функциональной диспепсии;
 - б) неблагоприятным – с персистенцией воспалительного инфильтрата в СОЖ и клинически преобладанием кислотозависимых заболеваний и синдрома вегетативной дистонии.
4. Фактором риска неблагоприятного течения постэрадикационного периода *H. pylori* – ассоциированного гастрита у подростков, сопровождающегося сохранением воспалительного инфильтрата, является персистенция в СОЖ ВЭБ ($p=0,001$; ОШ 7,39; ДИ 95%: 1,95; 27,78; Sc 86,67%, Sp 53,12%).
5. Присутствие ВЭБ в СОЖ у пациентов с персистенцией воспалительного инфильтрата в течение 12 месяцев после эрадикации *H. pylori*, сопровождается увеличением экспрессии в нем антиапоптотического белка bcl-2.
6. Полиморфизм гена TLR9 T-1237C не влияет на прогноз постэрадикационного периода *H. pylori* – ассоциированного гастрита у подростков.
7. Разработанный алгоритм наблюдения за подростками с *H. pylori* – ассоциированным гастритом, основанный на выявлении ВЭБ в СОЖ, позволяет прогнозировать течение постэрадикационного периода и своевременно выделять группу риска по сохранению воспалительного

инfiltrата в СОЖ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Детям, инфицированным ВЭБ следует проводить исследование полиморфизма гена TLR9 T-1237C для выявления группы риска по инфицированию вирусом СОЖ.
2. Подросткам с *H. pylori* – ассоциированным гастритом необходимо определять наличие ВЭБ в СОЖ для прогнозирования течения постэрадикационного периода и выявления группы риска по развитию эксхеликобактерного гастрита.
3. Подросткам с персистирующей в СОЖ ВЭБ инфекцией целесообразно дополнительное проведение эндоскопического исследования с биопсией СОЖ через 12 месяцев после эрадикационной терапии для своевременной диагностики эксхеликобактерного гастрита и дальнейшего наблюдения за данной категорией пациентов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Особенности течения хеликобактерассоциированного гастрита у подростков, инфицированных вирусом Эпштейн-Барр / М. Ю. Чупрынова, Е. А. Потрохова, Н. В. Соболюк // **Врач-аспирант**- 2011. - № 3 (46) - С.32-37.
2. Морфологические особенности хеликобактерассоциированного гастрита у подростков, инфицированных вирусом Эпштейн-Барр / Чупрынова М. Ю. // Актуальные вопросы педиатрии и детской хирургии: сб. материалов науч.-практ. конф. – Омск, 2011. – С.60-64.
3. Клиническая характеристика синдрома функциональной диспепсии у подростков с хеликобактерассоциированным гастритом, инфицированных вирусом Эпштейн-Барр / М. Ю. Чупрынова, Е. А. Потрохова // тезисы докладов Всероссийской научной школы «Превентивная медицина: вызовы XXI века». – Омск, 2011. – С.183-185
4. Клинические и морфологические особенности хеликобактерассоциированного гастрита у подростков, инфицированных вирусом Эпштейна-Барр / М. Ю. Чупрынова // **Педиатрическая фармакология**. – 2012. – Т. 9, № 2. – С. 144-145.
5. Персистенция вируса Эпштейн-Барр и течение хеликобактерассоциированного гастрита у подростков / М. Ю. Чупрынова, Е. А. Потрохова // Актуальные вопросы педиатрии и детской хирургии: сб. материалов науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, посвященный 100-летию со дня рождения академика РАМН В.П.

- Бисяриной. – Омск, 2012. – С.108-114.
6. Роль вируса Эпштейна-Барр в патологии органов желудочно-кишечного тракта / М. Ю. Чупрынова, Е. А. Потрохова // **Детские инфекции**. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 27-30.
 7. Особенности течения постэрадикационного периода у подростков, инфицированных вирусом Эпштейна-Барр / М. Ю. Чупрынова, Е. А. Потрохова // сб. материалов Всероссийской науч. – практ. конф., г. Прокопьевск, 8-9 июля 2013 г. / Центр науч. знаний PaRus. – 2013. – С. 33-40.
 8. Механизмы развития эксхеликобактерного гастрита у подростков / М. Ю. Чупрынова, Е. А. Потрохова, М. А. Романова // **Вестник НГУ**. – 2013. – Т. 11, вып. 3. – С. 136-141.
 9. Значение вируса Эпштейна-Барр при патологии гастродуоденальной зоны / М. Ю. Чупрынова, Е. А. Потрохова // сб. материалов науч. – практ. конф., посвященной 50-летию БУЗОО «ГДКБ №3». – Омск, 2013. – С. 72-78.
 10. Эксхеликобактерный гастрит у детей: возможные механизмы развития / М. Ю. Чупрынова, Е. А. Потрохова // **Клинические перспективы гастроэнтерологии и гепатологии**. – 2014. - №1. – С. 26-30.
 11. Полиморфизм гена TLR9 T-1237C как фактор риска инфицирования слизистой оболочки желудка вирусом Эпштейна-Барр / М. Ю. Чупрынова, Е.А. Потрохова, О.В. Вдович, О.А. Сидорова // Актуальные вопросы педиатрии и детской хирургии: сб. материалов науч.-практ. конф. – Омск, 2014. – С.80-84.
 12. Алгоритм наблюдения за подростками с *Helicobacter pylori* – ассоциированным гастритом: метод. рекомендации / Е. А. Порохова, М. Ю. Чупрынова ; Омская мед. акад. – Омск, 2014. – 35 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГЭРБ	гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь
ДИ	доверительный интервал
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДПК	двенадцатиперстная кишка
ОШ	отношение шансов
ПЦР	полимеразная цепная реакция
СОЖ	слизистая оболочка желудка
ФД	функциональная диспепсия
bcl-2	маркер апоптоза
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i> – пилорический хеликобактер
LMP	latent membran protein – латентный мембранный протеин
MALT	mucosa-associated lymphoid tissue - лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками
OR	odds ration – показатель отношения шансов
Sc	sensation - показатель чувствительности признака
Sp	specificity - показатель специфичности признака
TLR	толл-подобный рецептор

Библиотека литературы по функциональной гастроэнтерологии:

<http://www.gastroscan.ru/literature/>