

На правах рукописи

Манякина Ольга Михайловна

**Клинико-морфологическая характеристика хронического гастрита,
ассоциированного с различными генотипами *helicobacter pylori*, у
подростков и лиц молодого возраста**

14.01.28 – Гастроэнтерология

14.01.08 – Педиатрия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук профессор

Новикова Валерия Павловна

доктор медицинских наук профессор

Спивак Евгений Маркович

Официальные оппоненты:

Волынец Галина Васильевна – доктор медицинских наук, Обособленное структурное подразделение «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел гастроэнтерологии, руководитель отдела; главный научный сотрудник

Авалуева Елена Борисовна – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и диетологии имени С.М. Рысса, профессор кафедры

Ведущая организация: Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей – филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «21» июня 2021г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.09 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 19

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте <https://sechenov.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2021г.

Ученый секретарь диссертационного совета

кандидат медицинских наук, доцент

Чебышева Светлана Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность научного исследования

Согласно современным представлениям *Helicobacter pylori* (*Hp*) рассматривается в качестве главного этиологического фактора хронических воспалительных заболеваний верхнего отдела пищеварительного тракта [Г.Ш.Исаева, Р.И.Валиева, 2018; P.Sepponen, H.I.Maaroos, 2015]. Несмотря на длительную историю его изучения и огромное количество проведенных исследований, далеко не все вопросы взаимодействия *Hp* и организма человека остаются решенными.

Установлено, что при высоких показателях распространенности *Hp* в популяции *Hp*-ассоциированные заболевания развиваются лишь у небольшой части инфицированных лиц. Клинические проявления пилорического хеликобактериоза весьма переменны: бессимптомное бактерионосительство, воспалительная патология различной выраженности, язвенная болезнь. Существует точка зрения, согласно которой *Hp* может выступать в качестве патогена, комменсала или сапрофита [D.Cohen, 2015]. Доказано, что данному микроорганизму свойственен значительный генетический полиморфизм, определяющий его патогенность. Особенности генетической структуры инфекта могут оказывать существенное влияние на характер изменений слизистой оболочки желудка, а, следовательно, на развитие, течение, прогноз гастродуоденальной патологии и эффективность терапии [О.К.Поздеев с соавторами, 2018; M.F.Ashwak e.a.,2018].

В настоящее время в соответствии с действующими консенсусами, выявление *Hp* в абсолютном большинстве случаев автоматически ведет к назначению антихеликобактерного лечения. Однако, в тех случаях, когда слизистая оболочка желудка колонизирована малопатогенными штаммами *Hp* и отсутствуют выраженные клинико-эндоскопические и морфологические изменения, использование стандартных эрадикационных схем далеко не всегда может считаться оправданным. Все выше перечисленное обуславливает

важность изучения генетической структуры *Hp* при *Hp*-ассоциированной патологии.

Цель исследования - выявить особенности клинических, эндоскопических и патоморфологических проявлений хронического гастрита у подростков и лиц молодого возраста в зависимости от генетической характеристики *Helicobacter pylori* и разработать критерии диагностики варианта заболевания, ассоциированного с высокопатогенными штаммами инфекта.

Задачи исследования

1. Определить генетическую структуру *Helicobacter pylori* у подростков и лиц молодого возраста с *Hp*-ассоциированным хроническим гастритом;
2. Установить влияние факторов патогенности *Helicobacter pylori* на клинические и эндоскопические проявления хронического гастрита у подросткови лиц молодого возраста;
3. Охарактеризовать морфофункциональные особенности хронического гастрита и эффективность эрадикации у этой категории пациентов при инфицировании различными штаммами *Helicobacter pylori*;
4. На основе использования клинико-эндоскопических показателей разработать способ диагностики инфицирования слизистой оболочки желудка высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori* у подростков и лиц молодого возраста без генетического типирования инфекта.

Научная новизна исследования

Получены новые данные о частоте колонизации слизистой оболочки желудка высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori* у подростков и лиц молодого возраста, страдающих хроническим *Hp*-ассоциированным гастритом, которая составляет соответственно 55,8 и 58,8%.

Оценено влияние 16 факторов патогенности *Helicobacter pylori* на клинико- эндоскопические и патоморфологические проявления хронического *Hp*- ассоциированного гастрита, а также эффективность эрадикационной

терапии у подростков и лиц молодого возраста. В абсолютном большинстве случаев (98,6%) у пациентов *Helicobacter pylori* ассоциированным хроническим гастритом определяется сочетание нескольких факторов патогенности. Максимальный вклад в формирование выраженного воспаления в слизистой оболочке желудка вносит сочетание гена, кодирующего белок адгезии BabA с генами *Cag* (*Cag M, T, H, C, F, E, A*). Вторым по значимости фактором является комбинация генов *UreB, hpaA, OipA* и *AlpB*, третьим по значимости - ген *iceA*.

Практическая значимость исследования

Для совершенствования диагностики *Helicobacter pylori* ассоциированной патологии верхних отделов пищеварительного тракта у подростков и лиц молодого возраста внедрено генетическое типирование *Helicobacter pylori* на присутствие в геноме этой бактерии 16 факторов патогенности, что позволяет выявить пациентов, инфицированных высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori*.

Разработан и предложен для практического использования способ диагностики инфицирования слизистой оболочки желудка высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori* на основе данных гастроскопии и стандартного морфологического исследования гастробиоптатов без генетического типирования инфекта.

Наиболее значимыми симптомами хронического гастрита, ассоциированного с высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori*, у подростков и лиц молодого возраста по данным эндоскопического и морфологического исследования являются следующие: наличие распространенного и выраженного воспаления в слизистой оболочке желудка (пангастрит), а также луковицы двенадцатиперстной кишки, морфологические признаки атрофии.

Эффективность эрадикационной терапии хронического гастрита у подростков и лиц молодого возраста зависит от патогенности *Helicobacter pylori*. Колонизация слизистой оболочки желудка высокопатогенными штаммами *Hp*

повышает риск неуспешного антихеликобактерного лечения у этой категории пациентов в 2,2 раза.

Положения, выносимые на защиту:

1. Колонизация слизистой оболочки желудка высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori* у подростков и лиц молодого возраста с хроническим гастритом приводит к увеличению распространенности, выраженности и активности воспалительного процесса, а также частоты регистрацииморфологических признаков атрофии и кишечной метаплазии по сравнению с пациентами, инфицированными малопатогенными штаммами *Helicobacter pylori*.

2. Подростки и лица молодого возраста с хроническим гастритом, ассоциированным с высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori*, является группой высокого риска по неэффективности эрадикационной терапии, что является показанием для проведения у них генетического типирования *Helicobacter pylori*.

3. Разработан способ диагностики инфицирования слизистой оболочки желудка высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori* у подростков и лиц молодого возраста (заявка на изобретение № 2020109143 от 28.02.2020 г.).

Личный вклад автора

Все основные этапы работы выполнены автором лично: проводился поиск литературы по теме диссертации, клиническое обследование пациентов, анализ результатов лабораторных и инструментальных тестов. Автором осуществлена статистическая обработка цифрового материала. Сформулированы научные положения и выводы, логически вытекающие из проделанной работы и обоснованные с теоретической и практической позиции. Сформулированы и аргументированы практические рекомендации, которые подкреплены результатами собственных исследований.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в работу ГУЗ ЯО «Ярославская областная детская клиническая больница», ЧУЗ "КБ"РЖД-Медицина" г. Ярославля, а также используются в учебном процессе на кафедре педиатрии № 1 ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены на заседаниях Ярославского научно-практического общества педиатров (Ярославль, 2017, 2018), Всероссийской конференции «Лабораторная и инструментальная диагностика в клинической практике» (Санкт-Петербург, 2018), на 27-th United European Gastroenterology Week (Барселона, Испания, 2019).

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 11 печатных работ, в том числе 4 в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, из них 1 в журнале, индексируемом в Scopus и 3 публикации в зарубежной печати.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, глав, посвященных клинической характеристике пациентов и методам исследования, 2 глав собственных исследований, общего заключения и обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, список литературы, включающего 118 источников: 44 отечественных и 73 иностранных. Работа иллюстрирована 19 таблицами, 14 рисунками и двумя клиническими примерами.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспортам двух научных специальностей:

14.01.28 – Гастроэнтерология, занимающейся изучением заболеваний

пищеварительной системы, в том числе желудка, а также их этиологических факторов, включая микробные;

14.01.08 – Педиатрии, изучающей здоровье ребенка в процессе его развития, физиологию и патологию детского возраста, а также разрабатывающей методы диагностики, профилактики и лечения детских болезней, включая внутренние болезни у детей.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Обследовано 128 пациентов с *Hp*-ассоциированным хроническим гастритом (ХГ) в том числе 86 подростков: 46 юношей и 40 девушек возрасте от 12 до 19 лет (Me = 16,2 лет [13,8 - 17,6 лет]) и 42 молодых взрослых: 25 мужчин и 17 женщин

от 19 до 40 лет (Me = 24,3 года [21,8 - 36,7 лет]).

Анализировали анамнестические данные с определением факторов риска хронических гастродуоденальных заболеваний, осуществляли клиническое обследование с детальной оценкой симптоматики ХГ. Лабораторное исследование включало биохимический анализ крови; диагностику паразитозов, оценку плазменных концентраций биомаркеров состояния слизистой оболочки желудка (СОЖ) - гастрин-17, пепсиногенов I и II, титра антител класса G к антигенам *Hp* (наборы фирмы Biohit, Финляндия). Выявление *Hp* проводили с помощью уреазного теста, обнаружения инфекта при световой микроскопии препаратов СОЖ, окрашенных по Романовскому – Гимзе или его ДНК по результатам полимеразной цепной реакции. Для генетической характеристики *Hp* использовали тест-системы фирмы «ДНК-Технология», при помощи которых в геноме *Hp* идентифицировали 16 факторов патогенности: цитотоксин-ассоциированные гены - *CagA*, *M*, *T*, *H*, *C*, *F*, *E*; вакуолизирующий цитотоксин А (*VacAs1* и *VacAs2*); ген цитотоксичности *IceA*; гены, определяющие способность *Hp* к адгезии и образованию биопленок - *hpaA*; *OipA*; *AlpB*; ген, кодирующий субъединицы уреазы В (*UreB*) и I (*Ure I*). Осуществляли

эзофагогастродуоденоскопию с биопсией СОЖ фундального и антрального отделов с последующим морфологическим исследованием биоптатов. Цифровые данные обработаны с применением пакета прикладных программ «StatPlus 2009» в среде WINDOWS XP. Рассчитывали средние величины (M), их ошибки (m), стандартное отклонение (SD), медиану (Me). Вариационные ряды анализировались на соответствие закону нормального распределения с помощью признака Шапиро – Уилка. Достоверность различий средних величин при нормальном распределении определялась по критерию Стьюдента, в остальных случаях использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Для оценки взаимосвязей признаков использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена, применяли также факторный анализ. Значимость различий относительных величин (% и ‰) определяли с помощью углового преобразования Фишера. Для измерения информационной значимости признаков использовали коэффициент Кульбака, при разработке диагностической таблицы применяли методику последовательного статистического анализа по А. Вальду. Пороговой величиной достоверности цифровых данных являлся $p < 0,05$.

Наследственная отягощенность по гастроэнтерологической патологии выявлена в 74,2% случаев. Другими часто встречающимися факторами риска явились неудовлетворительные жилищно-бытовые условия (60,9%), наличие аллергозов (60,9%), курение (66,4%), паразитозы (77,3%). У 56,3% больных отмечалась гиподинамия; с сопоставимой частотой регистрировалось дисгармоничное физическое развитие (49,2%), чаще по типу избытка массы тела (33,6%). Хронические психотравмирующие ситуации выявлялись у каждого второго (47,7%). Изучение данных анамнеза заболевания показало, что у большинства пациентов (73,4%) его длительность превышала 1 год.

В зависимости от результатов генетического типирования *Hp* выделено 4 группы пациентов: 1. Подростки с ХГ, ассоциированным с малопатогенными штаммами *Hp* (n=38); 2. Подростки с ХГ, ассоциированным с высокопатогенными штаммами *Hp* (n=48); 3. Лица молодого возраста с ХГ, ассоциированным с малопатогенными штаммами *Hp* (n=17); 4. Лица молодого

возраста с ХГ, ассоциированным с высокопатогенными штаммами *Hp* (n=25). 1 и 3 подгруппы составили группу сравнения (n=55), 2 и 4 – основную группу (n=73).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При генетическом типировании установлено, что высокопатогенные штаммы *Hp* выявлялись в группе подростков и лиц молодого возраста практически с одинаковой частотой (55,8% и 59,5% соответственно, $p > 0,05$).

Патогенность *Hp*, определяет участок ДНК, получивший наименование островка патогенности - pathogenicity island - PAI [О.К.Поздеев с соавторами, 2018]. Хорошо известно, что возможность выживания *Hp* в кислой среде желудка возможна благодаря способности вырабатывать уреазу. Аммиак, выделяющийся в ходе расщепления мочевины, является высокотоксичным агентом, оказывающим прямое повреждающее действие на эпителиоциты СОЖ. У большинства пациентов (80,5%) обнаруживался ген *UreB*. Показано, что вместе с геном *UreA* он обеспечивает структурные единицы уреазы и усиливает хемотаксис лейкоцитов [А.А.Нижевич, Д.С.Валеева, 2017]. Особую роль играет ген *UreI*. Он имеет непосредственное отношение к образованию специального канала для H^+ , для транспорта мочевины в цитоплазму, где она в дальнейшем подвергается гидролизу [J.S.Joo e.a., 2010]. Наличие *UreI* выявлено у 36,7% больных.

Ген *CagA* считается одним из главных факторов патогенности *Hp*. Он угнетает процессы клеточного обновления, снижает барьерную функцию эпителиального покрова СОЖ, участвует в секреции провоспалительных цитокинов. В эпителиоцитах СОЖ белок, синтез которого кодирует этот ген, стимулирует внутриклеточную сигнальную систему SHP-2, выработку IL-8, который, в свою очередь, вызывает усиление миграции нейтрофилов в СОЖ и способствует транслокации в ядра клеток основного провоспалительного протеина NF- κ B. Он активирует гены, регулирующие продукцию цитокинов 1β , IFN- γ , фактора некроза опухоли α (TNF- α) [W.J.Shi e.a., 2013; B.M.Roesler e.a., 2014]. Наличие *CagA* в геноме инфекта значительно увеличивает вероятность

развития язвенных поражений СОЖ [S.M.Abdullah e.a.,2012], а также канцерогенеза [X.Z.Chen e.a.,2015].

Положительный *CagA*-статус имели 45,3% больных. Присутствие *CagA* имеет прямые корреляционные связи с основными показателями воспалительного процесса: выраженностью ($R=+0,37$, $p<0,01$), активностью ($R=+0,34$, $p<0,01$), наличием морфологических признаков атрофии ($R=+0,37$, $p<0,05$). Кроме *CagA* важную роль в развитии гастродуоденальной патологии играют и другие *Cag*- гены острова патогенности. По нашим данным эти компоненты PAI присутствуют в геноме *Hp* у подростков и лиц молодого возраста с ХГ более, чем в половине случаев; среди лиц молодого возраста они выявляются несколько чаще, чем у подростков, но эти различия недостоверны (таблица 1).

Таблица 1 – Частота выявления генов *CagPAI* у пациентов с ХГ (%)

Наименование генов <i>CagPAI</i>	Возрастные группы	
	подростки(n = 86)	Лица молодого возраста (n = 42)
<i>CagA</i>	41,9	54,8
<i>CagF</i>	41,9	57,1
<i>CagC</i>	53,5	59,5
<i>CagM</i>	34,9	52,3
<i>CagT</i>	44,2	57,1
<i>CagH</i>	48,8	61,9
<i>CagE</i>	55,8	61,9

Примечание: достоверных различий между группами не получено ($p>0,05$)

По данным О.О.Янович с соавторами (2010) наличие *CagA*, *CagM* и *CagT* с наибольшей частотой встречалось в биоптатах СОЖ пациентов с язвенной болезнью ДПК по сравнению с больными хроническим гастритом. Установлено, что *CagE*, *CagH*, *CagL* и *CagM* активируют ядерный фактор NF-kB, а *CagT* связывается с рецепторами эпителиоцитов СОЖ с последующим выбросом ИЛ-8, что облегчает проникновение *CagA* в цитоплазму клетки. Цитотоксины *CagC*, *CagH*, *CagE* стимулируют выработку ИЛ-8, а *CagF* участвует в процессе

распознавания и доставки *CagA* в каналы секреторной системы IV типа. Цитотоксин *CagL* является компонентом пилей, осуществляющих контакт между бактерией и СОЖ. Кроме того, он усиливает связывание аппарата IV типа секреции с $\alpha 5\beta 1$ -интегриновыми рецепторами. В конечном итоге все эти взаимодействия способствуют транспорту *CagA* в клетку [Г.Ш.Исаева, Р.И.Валиева, 2018].

Другим фактором патогенности *Hp* считается ген *VacA*, кодирующий синтез вакуолизирующего цитотоксина. Этот протеин вызывает цитотоксический эффект – образование вакуолей в эпителиоцитах СОЖ. Он воздействует на АТФ-азу V- типа, создавая кислую внутриклеточную среду. Это привлекает из перичеселлюлярного пространства внутрь клетки аммиак и другие вещества, которые притягивают воду. В результате вакуоли набухают, сливаются друг с другом, что, в конечном итоге, приводит к разрыву цитоплазматической мембраны и клеточной смерти. Кроме того, *VacA* угнетает секрецию HCL в париетальных клетках фундальных желез, увеличивает синтез пепсиногена в главных клетках, а также обладает рядом других негативных эффектов. Установлено, что между *CagA* и *VacA* генотипами *Hp* существует ассоциация, и большинство *VacA* штаммов являются *CagA* позитивными [J.I.Matos e.a., 2013]. В структуру *VacA* входит вариабельный фрагмент S-регион. Он кодирует сигнальный пептид и имеет 2 аллельных варианта *S1* и *S2*. Показано, что штаммы *Hp*, имеющие в составе генома аллель *VacAs1* значительно усиливают повреждающий СОЖ потенциал за счет стимуляции синтеза пепсиногена. Генотип *VacAs1* обычно ассоциирован с язвенной болезнью ДПК, а *VacAs2* с хроническим гастритом. При морфологическом исследовании у *VacAs1*- позитивных пациентов выявляется большая степень лимфоцитарной и нейтрофильной инфильтрации СОЖ и обсемененности *Hp* в антральной области [А.А.Нижевич, Д.С.Валеева, 2017].

Частота выявления гена *VacAs1* у пациентов составила 63,3%, а *VacAs2* лишь 6,3%. Наличие *VacAs1* имело положительную связь с выраженностью воспаления ($R=+0,39$, $p<0,01$) и морфологическими признаками атрофии СОЖ

($R=+0,40$, $p<0,05$). Для *VacAs2* статистически значимых ассоциаций с характеристиками воспалительного процесса не зарегистрировано.

У каждого третьего больного (31,3%) обнаружен ген *IceA*. Показано, что он имеет отношение к контакту *Hp* с эпителиоцитом. Доказано, что инфицирование *IceA*-позитивным штаммом *Hp* коррелирует со степенью инфильтрации СОЖ полиморфно-ядерными нейтрофилами [X.Huang e.a., 2016].

С сопоставимой частотой (38,3%) нами зарегистрирован фактор патогенности *Hp*, обозначаемый как *BabA*. Значение этого гена и одноименного протеина заключается в обеспечении процесса адгезии инфекта к эпителиальному покрову СОЖ, что снижает возможность элиминации *Hp* из организма хозяина [N.Hage e.a., 2016].

Чаще всего в материалах гастробиоптатов у лиц молодого возраста с хроническим гастритом выявлялись факторы патогенности *Hp*, способствующие адгезии бактерии с эпителиоцитах СОЖ и образованию биологических пленок. Ген *hpaA*, кодирующий синтез одноименного белка и усиливающий процесс фиксации *Hp* в СОЖ [О.К.Поздеев с соавторами, 2018], регистрировался в 78,9% случаев. Наличие гена *OipA* ассоциируется с положительным *CagA*-статусом, выраженной нейтрофильной инфильтрацией СОЖ и высокой степенью обсемененности *Hp* [D.N.Horridge e.a., 2017]. Этот фактор определялся у 68,8% пациентов. Ген *AlpB*, регулирующий синтез поверхностного адгезина, обнаружен в 80,5% случаев.

Сравнительный анализ генетической структуры *Hp* в двух возрастных группах (таблица 2) показал, что 15 из 16 определяемых нами факторов патогенности не имеют статистически значимых различий по частоте их встречаемости среди подростков и взрослых молодых лиц. Исключение составил только *OipA*, который несколько чаще выявлялся в старшей возрастной группе.

Таблица 2 – Частота выявления факторов патогенности *Hp* при хроническом гастрите (%)

Факторы патогенности <i>Hp</i>	Возрастные группы	
	Подростки (n = 86)	Лица молодого возраста (n = 42)
<i>VacAs1</i>	58,1	73,8
<i>VacAs2</i>	7,0	4,8
<i>IceA</i>	27,9	38,1
<i>BabA</i>	34,9	45,2
<i>UreB</i>	79,1	83,3
<i>UreI</i>	34,9	40,5
<i>HpaA</i>	76,7	83,3
<i>AlpB</i>	79,1	83,3
<i>OipA</i>	62,8	81,0*

Примечание: * - $p < 0,05$

У 97,1% подростков и 100% лиц молодого возраста выявлено сочетание нескольких факторов патогенности, более чем в 50% случаев одновременно определялось 10 и более факторов (таблица 3).

Таблица 3 – Распределение пациентов по числу факторов патогенности в геноме *Hp* (%).

Общее число факторов патогенности в геноме <i>Hp</i>	Возрастные группы	
	Подростки	Лица молодого возраста
1 - 2	2,1	0,0
3 - 5	25,0	24,0
6 - 9	20,8	20,0
10 и более	52,1	56,0

Для установления влияния генетической структуры *Hp* на клинические проявления ХГ у подростков и лиц молодого возраста провели детальное сопоставление феноменологии основных его синдромов: болевого абдоминального, диспептического, астеновегетативного и интоксикационного в зависимости от штамма *Hp*. В результате сравнительного анализа каких-либо особенностей клинических проявлений ХГ, связанных с патогенностью *Hp*, не обнаружено. Одновременно получены значимые межгрупповые различия, касающиеся эндоскопической характеристики СОЖ и ДПК. Установлено, что колонизация СОЖ высокопатогенными штаммами *Hp* приводит к расширению

зоны ее повреждения. Хроническое воспаление в субкардии регистрировалось у 22,9% подростков и 40% лиц молодого возраста основной группы против 7,9% и 11,8% соответственно в группе сравнения ($p < 0,05$), а пангастрит у них выявлялся более чем в 3 раза чаще (35,4% и 48% против 7,9% ($p < 0,005$) и 17,6% ($p < 0,05$)).

Эндоскопически визуализируемое воспаление в СОЖ, вызванное высокопатогенными штаммами *Hp*, характеризуется следующими особенностями: практически у каждого второго пациента (47,3% и 48%) имеет место выраженный процесс в большинстве случаев (77,1% и 76%) гиперпластический, у 20,8% и 24% из них выявляются визуальные признаки атрофии СОЖ. В группе сравнения, напротив, преобладает умеренное или незначительное воспаление (81,6% и 82,3%), чаще поверхностное (55,3% и 52,9%), признаки атрофии СОЖ регистрируются значительно реже (5,3% и 5,9%, $p < 0,05$). Эндоскопически визуализируемые признаки вовлечения в процесс слизистой оболочки ДПК значительно чаще фиксировались в основной группе (66,3% против 28,1%, $p < 0,005$), у этих больных значительно чаще диагностировался фолликулярный бульбит (18,8% против 5,3%, $p < 0,05$).

Таким образом, по данным эндоскопии установлено, что колонизация СОЖ высокопатогенными штаммами *Hp* при ХГ у подростков и лиц молодого возраста способствует расширению зоны воспаления до степени пангастрита; увеличению выраженности процесса в СОЖ и в ДПК; формированию его гиперпластического варианта; возникновению макроскопических признаков атрофии. Напротив, хроническое воспаление, ассоциированное с малопатогенными штаммами *Hp*, чаще имеет ограниченную зону распространения (преимущественно по типу антрум-гастрита), незначительную или умеренную выраженность и поверхностный характер.

Колонизация СОЖ высокопатогенными штаммами *Hp* имеет прямую корреляцию с показателями обсемененности. Так, в группе сравнения в половине случаев регистрировались низкие ее значения (47,4% и 52,9% соответственно у подростков и взрослых), тогда как в основной группе доминировали случаи умеренной и высокой обсемененности (43,7% и 36%). Степень обсемененности

коррелировала с большинством факторов патогенности инфекта; наиболее тесно с генами, регулирующими процесс адгезии *Hp* к эпителиоцитам СОЖ и, следовательно, способствующие увеличению показателя обсемененности: *hpaA* --+0,70, *OipA* - +0,66 и *AlpB* - +0,68 ($p < 0,005$).

Анализ основных характеристик воспалительного процесса в СОЖ показал, что присутствие в СОЖ высокопатогенных штаммов *Hp* значительно увеличивает выраженность и активность воспаления, как в теле, так и в антральном отделе желудка, что согласуется с данными эндоскопического исследования (таблица 4). У пациентов основной группы достоверно чаще регистрируются морфологические признаки атрофии СОЖ, особенно в антруме (41,7% и 56% в основной группе соответственно подростков и лиц молодого возраста против 15,8% и 23,4% ($p < 0,05$), а также микроэрозии (31,3% и 44% против 15,8% и 11,8% и лимфоидные фолликулы (43,8% и 44% против 15,8% и 11,8%, $p < 0,05$). Фокусы тонкокишечной метаплазии выявлены в 7 случаях (1 подросток и 6 лиц молодого возраста).

Таблица 4 – Выраженность и активность воспаления СОЖ у пациентов с хроническим гастритом (%)

Морфологические данные	Подростки (n = 86)		Лица молодого возраста (n = 42)	
	Группа сравнения (n = 38)	основная группа (n = 48)	Группа сравнения (n = 17)	основная группа (n = 25)
Выраженность воспаления в слизистой оболочке тела желудка				
Отсутствует	34,2	12,2**	29,4	4,0*
Начальное воспаление	50,0	41,7	52,9	40,0
Умеренное воспаление	13,2	31,3*	11,8	40,0*
Выраженное воспаление	2,6	14,8	5,9	16,0
Активность воспаления в слизистой оболочке тела желудка				
Отсутствует	34,2	12,2**	29,4	4,0*
Начальная	47,4	31,3	52,9	52,0
Умеренная	5,3	25,0**	5,9	28,0*
Выраженная	13,1	31,5*	11,8	16,0
Выраженность воспаления в слизистой оболочке антрального отдела				
Начальное воспаление	78,9	29,2***	76,4	20,0***
Умеренное воспаление	7,9	22,9*	11,8	40,0*

Выраженное воспаление	13,247,9***	11,8	40,0*
Активность воспаления в слизистой оболочке антрального отдела			
Начальная	71,135,4***	76,4	20,0***
Умеренная	15,818,8	17,6	24,0
Выраженная	13,145,8***	6,0	56,0***

Прямая связь воспаления в СОЖ с генетической структурой *Hp* еще раз подтверждается наличием большого числа корреляций между ними (таблица 5). Присутствие в геноме инфекта одновременно нескольких факторов патогенности увеличивает выраженность ($R=+0,50$), активность воспаления ($R=+0,24$) частоту регистрации признаков атрофии СОЖ ($R=+0,33$) и кишечной метаплазии ($R=+0,29$, $p<0,01$).

Таблица 5 – Корреляция факторов патогенности *Hp* с морфологическими изменениями в слизистой оболочке желудка при хроническом гастрите

Факторы патогенности <i>Hp</i>	Характеристики воспалительного процесса в СОЖ			
	Выраженность	Активность	Признаки атрофии	Тонкокишечная метаплазия
<i>IceA</i>	+ 0,27*	+ 0,29*	-	-
<i>HpaA</i>	+ 0,70***	+ 0,32*	+ 0,41**	-
<i>BabA</i>	-	-	-	+ 0,35**
<i>VacAs1</i>	+ 0,39**	-	+ 0,40*	-
<i>CagE</i>	-	-	-	-
<i>AlpB</i>	+ 0,68***	+ 0,27*	+ 0,47***	-
<i>UreB</i>	+ 0,64***	+ 0,22*	+ 0,41**	-
<i>CagF</i>	-	-	-	-
<i>CagC</i>	+ 0,23*	-	+ 0,37*	+ 0,26*
<i>OipA</i>	+ 0,66***	+ 0,42**	+ 0,39**	-
<i>CagA</i>	+ 0,37**	+ 0,34**	+ 0,37*	-
<i>CagM</i>	+ 0,25*	-	+ 0,41**	+ 0,23*
<i>CagT</i>	-	-	+ 0,37*	+ 0,22*
<i>CagH</i>	-	-	+ 0,41**	+ 0,23*
<i>UreI</i>	+ 0,24*	-	-	-

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,005$.

Факторный анализ показал, что сочетание гена, кодирующего белок адгезии *BabA* с генами *CagM*, *T*, *H*, *C*, *F*, *E*, *A* вносит максимальный вклад в формирование выраженного воспаления при ХГ у подростков и лиц молодого

возраста (41,9%). Вторым по значимости фактором (29,8%) является комбинация генов *UreB*, *hpaA*, *OipA* и *AlpB*. Третий фактор представлен геном *iceA* (11%). Суммарно эти факторы патогенности определяют выраженный процесс в СОЖ на 82,7%.

Для оценки функциональной активности желез желудка определяли плазменную концентрацию G-17, P_{gI}, P_{gII} и соотношения P_{gI}/P_{gII}. Установлено, что у больных основной группы вдвое выше уровень гастрина -17 (10,6±2,1 пмоль/литр против 5,2±0,9 пмоль/литр, $p < 0,05$). У них зарегистрирована тенденция к увеличению плазменного содержания пепсиногена II (26±3 мкг/л против 20±3 мкг/л, $p > 0,05$), ниже среднее значение P_{gI}/P_{gII} (10±1 против 13±2, $p > 0,05$) и выше титр антител класса G к антигенам *Hp* (75±6 у.е. против 52±7 у.е., $p < 0,01$). Таким образом, результаты лабораторного обследования отражают большую выраженность у этих пациентов воспалительного процесса в СОЖ.

Все пациенты получили антихеликобактерную терапию: у подростков применялась стандартная тройная терапия, включавшая ингибитор протонной помпы (омепразол, эзомепразол или рабепразол), амоксициллин и кларитромицин в течении 10–14 дней, у молодых лиц использовали классическую четырехкомпонентную терапию в виде комбинации препарата висмута, ингибитора протонной помпы, тетрациклина и метронидазола, продолжительность курса составила 14 дней.

Эрадикация *Hp* достигнута в 101 случае (78,9%), в данной группе высокопатогенные штаммы *Hp* выявлены у 45,5% больных. У 27 человек (21,1%)

- 20 подростков и 7 лиц молодого возраста терапия оказалась неуспешной, и у всех этих пациентов определены высокопатогенные штаммы *Hp*. Следовательно, колонизация ими СОЖ увеличивает риск неуспешного лечения в 2,2 раза.

Всем больным с неэффективной эрадикацией *Hp* осуществлена повторная гастроскопия через 6 месяцев после лечения. Показаниями для нее послужили сохраняющийся болевой синдром и диспептические жалобы, высокая выраженность и активность воспалительного процесса в СОЖ при первичном

обследовании. При типировании штамма *Hp* во всех случаях установлена колонизация СОЖ высокопатогенными штаммами.

При повторном изучении гастробиоптатов установлено, что эрадикация *Hp* после лечения не наступила ни в одном случае, у 63% пациентов сохранялась умеренная или выраженная ее степень обсемененности *Hp*, в 18,5% случаев в теле желудка и в 63% в антральной области сохранялось умеренное или выраженное воспаление, а у трети больных (37%) спустя полгода после лечения регистрировалась умеренная или высокая активность воспаления в антруме, у 22,2 % здесь оставались признаки атрофии, в 22,2% и 18,5% случаев соответственно сохранялись микроэрозии и лимфоидные фолликулы.

В клинической практике типирование *Hp* не всегда доступно. Поэтому, нами разработана методика с использованием последовательного статистического анализа по А.Вальду для выявления группы пациентов, у которых ХГ вызван высокопатогенными штаммами инфекта. После оценки информативной ценности было отобрано 12 признаков, отражающих данные эндоскопии и стандартного морфологического исследования гастробиоптатов (таблица 6).

Таблица 6 – Значения диагностических баллы признаков для оценки патогенности штамма *Hp* при хроническом гастрите у подростков и лиц молодого возраста

Перечень признаков	высокопатогенные штаммы	малопатогенные штаммы
Данные эндоскопии		
1.Пангастрит	+ 5,1	
2.Выраженное воспаление СОЖ	+ 4,3	
3.Поверхностный процесс в СОЖ		- 3,6
4.Признаки атрофии СОЖ	+ 6,4	
5.Бульбит	+ 4,2	
6.Отсутствие бульбита		- 2,8

Данные морфологического исследования гастробиоптатов		
7. Умеренное или выраженное воспаление в теле желудка	+ 4,6	
8. Незначительное воспаление в антруме		- 6,7
9. Умеренное воспаление в антруме	+ 5,6	
10. Выраженное воспаление в антруме	+ 6,3	
11. Умеренная или высокая активность воспаления в антруме	+ 3,4	
12. Признаки умеренной атрофии слизистой оболочки антрума	+ 11,1	

Для принятия диагностического решения производят последовательное суммирование коэффициентов 2 и 3 столбцов таблицы 17 до тех пор, пока не будет достигнут или превышен один из порогов (+ 17 или – 17 баллов). С этого момента процедуру последовательного статистического анализа прерывают и выносят решение, соответствующее тому или иному порогу. В тех случаях, когда не удается достигнуть пороговой величины, делается заключение о недостаточности информации для принятия решения (ответ неопределенный). Апробация таблицы показала, что ее использование позволяет выявить колонизацию СОЖ высокопатогенными штаммами *Hp* в 81,6% случаев.

ВЫВОДЫ:

1. У 55,8% подростков и у 59,5% лиц молодого возраста с *Hp*-ассоциированным хроническим гастритом выявляются высокопатогенные штаммы *Helicobacter pylori*. Частота встречаемости абсолютного большинства факторов патогенности в геноме бактерии у пациентов этих двух возрастных групп не имеет достоверных различий.

2. В половине случаев у подростков и лиц молодого возраста с хроническим гастритом, ассоциированным с высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori*, в геноме бактерии присутствуют гены *Cag* островка

патогенности(*A, C, E, F, H, M, T*), 41,9% подростков и 54,8% лиц молодого возраста являются *CagA*-позитивными, у 80,5% больных определяется ген *UreB*, у 63,3% - *VacAs1*, реже - *BabA* (38,3%), *UreI* (36,7%) и *IceA* (31,3%). С высокой частотой регистрируются факторы адгезии и биопленкообразования: *hpaA* (78,9%), *AlpB* (80,5%), *OipA* (68,8%). Практически во всех случаях (98,6%) отмечается сочетание нескольких генов островка патогенности, в том числе у 53,4% больных 10 и более факторов.

3. Частота и характер проявлений основных клинических синдромов хронического *Hp*-ассоциированного гастрита: болевого абдоминального, диспептического, интоксикационного и вегетативной дистонии у подростков и лиц молодого возраста не зависят от структуры генома *Helicobacter pylori*. Одновременно информативными эндоскопически визуализируемыми признаками хронического гастрита, ассоциированного с высокопатогенными штаммами инфекта, являются распространенное выраженное гиперпластическое воспаление слизистой оболочки желудка с признаками ее атрофии.

4. Присутствие высокопатогенных штаммов *Helicobacter pylori* по данным морфологического исследования сопряжено с высокими показателями обсемененности, усилением воспаления, появлением признаков атрофии и кишечной метаплазии слизистой оболочки желудка, а также увеличением продукции гастрин-17 и пепсиногена II ее железами.

5. Максимальный вклад в формирование выраженного воспалительного процесса при *Hp*-ассоциированном хроническом гастрите у подростков и лиц молодого возраста (41,9%) вносит сочетание гена *BabA* с генами *Cag* (*M, T, H, C, F, E, A*), а также комбинация генов *UreB, hpaA, OipA* и *AlpB* (29,8%).

6. Генетическая структура *Helicobacter pylori* является одним из факторов, определяющих эффективность терапии *Hp*-ассоциированного хронического гастрита у подростков и лиц молодого возраста. Наличие высокопатогенных штаммов инфекта способствует сохранению умеренного и выраженного воспаления СОЖ и значительно снижает долю больных с успешной эрадикацией.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:

1. У подростков и лиц молодого возраста с хроническим *Нр*-ассоциированным гастритом, имеющих следующие эндоскопически визуализируемые и морфологические изменения: наличие пангастрита, выраженного воспаления в теле желудка, умеренного или выраженного воспаления в антральной области, признаки атрофии, кишечной метаплазии и бульбита следует предполагать колонизацию слизистой оболочки желудка высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori*.

2. Подростков и лиц молодого возраста с хроническим *Нр*-ассоциированным гастритом, у которых имеет место колонизация слизистой оболочки желудка высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori*, следует рассматривать как группу высокого риска по развитию выраженного воспалительного процесса, торпидного к антихеликобактерной терапии. Для данной категории пациентов оптимальным является подбор схемы эрадикационной терапии на основании результатов анализа индивидуальной чувствительности *Helicobacter pylori* к антибактериальным препаратам.

3. Случаи сохранения умеренного или выраженного воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка и отсутствия эффекта от антихеликобактерной терапии являются показанием для исследования генетической структуры *Helicobacter pylori*.

4. Предложен способ диагностики инфицирования слизистой оболочки желудка высокопатогенными штаммами *Helicobacter pylori* без генетического типирования инфекта (заявка на изобретение № 2020109143 от 28.02.2020 г.).

СПИСОК РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Спивак Е.М., Манякина О.М., Аккуратова И.С. Особенности воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка при различном характере ее бактериально-вирусного инфицирования у подростков с хроническим гастритом. // **Пермский медицинский журнал**. 2018; 6 (35): 10-15.

2. Спивак Е.М., Аккуратова И.С., Левит Р.М., **Манякина О.М.**, Надежин А.С. Морфометрический анализ клеточного состава желез слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите. // *Лабораторная и инструментальная диагностика в клинической практике*. СПб. 2018: 111-114.

3. Левит Р.М., Спивак Е.М., Аккуратова И.С., **Манякина О.М.**, Надежин А.С. Особенности диагностики аутоиммунного гастрита у детей и подростков. *Лабораторная и инструментальная диагностика в клинической практике*. СПб. 2018: 115-118

4. Аккуратова И.С., Спивак Е.М., **Манякина О.М.** Ко-инфицирование слизистой оболочки желудка *Helicobacter pylori* и вирусом Эпштейна-Барр как фактор неэффективности антихеликобактерной терапии хронического гастрита у подростков. // *Пермский медицинский журнал*. 2019; 1 (36): 27-30.

5. **Манякина О.М.**, Спивак Е.М., Аккуратова И.С. Эффективность антихеликобактерной терапии при хроническом гастрите у подростков в зависимости от генетической структуры *Helicobacter pylori*. // *Вестник Смоленской медицинской академии*. 2019; 1 (18): 133–135.

6. Спивак Е.М., **Манякина О.М.**, Левит Р.М., Кириллов М.Ю., Огнева Л.В., Аккуратова И.С. Генетическая характеристика *Helicobacter pylori* у подростков с хроническим гастритом. // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология (Scopus)*. 2019; 11 (171): 27-30.

7. Спивак Е.М., Аккуратова И.С., **Манякина О.М.** Характеристика клеточных субпопуляций желез слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите у подростков и лиц молодого возраста. // *Детская гастроэнтерология* 2019. Москва – СПб. 2019: 213-222.

8. Спивак Е.М., **Манякина О.М.** Генетический полиморфизм *Helicobacter pylori* при хроническом гастрите у лиц молодого возраста. // *Детская гастроэнтерология* 2019. Москва – СПб. 2019: 223-234

9. Spivak E.M., **Manyakina O.M.**, Levit R.M., Kirillov M.Yu., Ogneva L.V., Akkuratova I.S. Genetic structure of *Helicobacter pylori* in relatives: results from a family study. *UEG journal*. 2019; 7: 463.

10. Spivak E.M., **Manyakina O.M.**, Levit R.M., Kirillov M.Yu., Ogneva L.V., Akkuratova I.S. The influence of the genetic structure of *Helicobacter pylori* on the clinical and morphological manifestations of chronic gastritis in adolescents. UEG journal. 2019; 7: 463 - 464.

11. **Manyakina O.M.**, Spivak E.M., Levit R.M., Akkuratova I.S. The effectiveness of therapy of *Helicobacter pylori* in chronic gastritis in adolescents, depending on the genetic structure of *Helicobacter pylori*. UEG journal. 2019; 7: 464.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ:

ДПК – двенадцатиперстная кишка

СОЖ – слизистая оболочка желудка

ХГ – хронический гастрит