

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой



Е. И. Шишацкая

подпись


« 22 » июня 2016 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 - Биология

Особенности цитокиновой регуляции при хроническом гастрите и при
хроническом атрофическом гастрите

Научный руководитель


подпись, дата

профессор, д.м.н. О. В. Смирнова

Выпускник


подпись, дата

Е. А. Коляда

Красноярск 2016

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	5
1.1 Общая характеристика хронического гастрита	5
1.1.1 Этиология ХГ.....	6
1.1.2 Патофизиология ХГ при воздействии <i>H. Pylori</i>	8
1.1.3 Иммунный ответ при ХГ - ассоциированном с <i>H. pylori</i>	11
1.2 Общая характеристика хронического атрофического гастрита	13
1.2.1 Этиология ХАГ	13
1.2.2 Патофизиология ХАГ	14
1.2.3 Осложнения вызванные ХАГ	16
1.3 Общая характеристика цитокинов	17
1.4 Цитокины при ХГ и ХАГ	18
1.4.1 IL-2.....	20
1.4.2 IL-8.....	21
1.4.3 TNF- α	23
1.4.4 IL-4.....	24
1.4.5 IFN- γ	25
1.5 Общая характеристика пепсиногенов I и II.....	26
1.5.1 Пепсиноген I.....	27
1.5.2 Пепсиноген II.....	27
1.5.3 Соотношение пепсиногенов I и II.....	28
1.6 Иммуноферментный анализ.....	29
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	32
2.1 Метод ИФА для цитокинов: IL-2, IL-4, IL-8, TNF- α и IFN- γ	33
2.1.1 Оборудование и материалы.....	33
2.1.2 Принцип метода	34
2.2 Статистический метод обработки данных.....	34
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	36
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	37
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	38

ВВЕДЕНИЕ

Хронический атрофический гастрит (ХАГ) относят к предраковым состояниям желудка, на фоне которого развиваются метаплазия и дисплазия, а также гиперпролиферация эпителия слизистой оболочки желудка, способствующая развитию опухолей [1].

Считается, что развитие аденокарцином желудка представляет взаимосвязанные между собой патогенетические звенья (каскад Correa): поверхностный гастрит – атрофический гастрит – метаплазия – дисплазия – рак желудка [2]. При ХАГ возникают воспалительные изменения, нарушения деления эпителиоцитов с развитием их генетической нестабильности, появляются условия для трансформации и метастазирования клеток [3, 4]. Таким образом, хроническое воспаление создает предпосылки для возникновения злокачественных эпителиальных новообразований и их прогрессирования [5].

Установлено, что хронический атрофический гастрит увеличивает в 6-8 раз риск развития рака желудка [6]. По эпидемиологическим данным хронический атрофический гастрит в России выявляется у 10-20% обследованных лиц [7].

Для определения выраженности атрофических изменений в слизистой оболочке желудка необходимо оценивать в сыворотке крови концентрации пепсиногена-1, -2 и их соотношение. Комплексное исследование указанных параметров служит для выявления и дифференциальной диагностики поверхностного и атрофического гастритов [8, 9].

Ключевая роль в развитии хронического атрофического гастрита принадлежит *H. pylori* инфекции, уровень распространенности которой в разных регионах России колеблется от 50 до 70-80 % [6, 10]. Хроническая персистирующая инфекция вызывает изменения в иммунном ответе, модифицируя цитотоксическую и антителообразовательную функции лимфоцитов. Данные функции в свою очередь направлены на элиминацию возбудителя [10, 11].

В связи с этим целью данной работы явилось определение содержания провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в плазме крови у больных хроническим гастритом и хроническим атрофическим гастритом и изучение особенностей цитокиновой регуляции при *H. pylori*-ассоциированных хронических гастритах.

Исходя из поставленной цели, были сформулированы следующие задачи:

1. Определить содержание некоторых провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-8, IFN- γ , TNF- α) в плазме крови больных хроническим и хроническим атрофическим гастритами в сравнении с контрольной группой.

2. Определить содержание противовоспалительного цитокина (IL-4) в плазме крови больных хроническим и хроническим атрофическим гастритами в сравнении с контрольной группой.
3. Определить приоритетный путь иммунного реагирования у больных хроническим и хроническим атрофическим гастритами.

Работа проводилась на базе лаборатории клинической патофизиологии НИИ Медицинских проблем Севера.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общая характеристика хронического гастрита

Хронический гастрит (ХГ) – длительно текущее рецидивирующее заболевание с воспалительным поражением слизистой оболочки желудка [12]. Хроническим гастритом страдает 50-80% взрослого населения Российской Федерации [13]. Согласно каскада Корреа хронический гастрит в 40 % случаев перерождается в хронический атрофический гастрит (ХАГ), который относится к предраковым состояниям [13]. При хроническом гастрите развивается ряд морфологических изменений слизистой оболочки желудка: увеличивается ее лимфоидно-плазмноклеточная инфильтрация, нарушается регенерация желез, атрофируются эпителиальные клетки, перестраивается работа желез по кишечному или пилорическому типу. Возникающие изменения СОЖ приводят к нарушению основных функций желудка, в первую очередь кислото- и пепсинообразующей [14, 15].

Хронический гастрит, ассоциированный с *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) – инфекцией, является одним из самых распространенных гастроэнтерологических заболеваний. Наиболее важной характеристикой, отражающей прогноз заболевания, является атрофия слизистой оболочки, которая далее является причиной атрофического гастрита и затем рака желудка [16, 17, 18].

Согласно Сиднейской классификации (1990), диагноз ХГ должен формулироваться на основании четырех признаков заболевания [19]:

1. Локализация патологического процесса.
2. Гистологические признаки, выявленные при исследовании биоптатов слизистой оболочки.
3. Макроскопические признаки, выявленные при эндоскопии желудка.
4. Вероятные этиологические факторы.

Данные характеристики оцениваются с помощью визуально-аналоговой шкалы, полуколичественно по степени: норма (отсутствие признака), слабый, умеренный, выраженный гастрит. Более поздняя, Хьюстонская, классификация (1994) внесла в Сиднейскую систему важные дополнения, в соответствии с которыми различают [48]:

1. Неатрофический (поверхностный) гастрит – в качестве этиологического фактора указывается *H. pylori*.
2. Атрофический гастрит – с инфекцией *H. pylori* ассоциирован мультифокальный атрофический гастрит с вовлечением тела и антрального отдела желудка. Атрофический гастрит тела желудка имеет аутоиммунную природу.
3. Особые формы хронического гастрита – химический, лимфоцитарный, эозинофильный, неинфекционный гранулематозный, лучевой.

Однако данные классификации представлялись многим исследователям слишком громоздкими для использования в рутинной диагностике. Поэтому, для того чтобы облегчить и по возможности стандартизировать определение прогноза ХГ, в первую очередь оценку степени риска развития рака желудка, в

апреле 2005 г. в Праге международная группа исследователей, включившая гастроэнтерологов и патологов, предложила на основе критического пересмотра Сиднейской классификации свою оригинальную систему оценки степени и стадии атрофии СОЖ. Данная система получила название OLGA (Operative Link for Gastritis Assessment). В основе данной системы лежит предложение М. Rugge и R.M. Genta использовать для классификации ХГ систему, давно и с успехом применяемую для классификации хронических гепатитов, т. е. оценки степени и стадии ХГ [20]. Под степенью гастрита понимается выраженность суммарной воспалительной инфильтрации (нейтрофильными лейкоцитами и мононуклеарными клетками), под стадией – выраженность атрофии [19].

1.1.1 Этиология ХГ

Существуют две группы этиологических факторов ХГ: экзогенные и эндогенные [21].

Экзогенные факторы: инфицирование *H. pylori*, алиментарные факторы, злоупотребление алкоголем, курение, длительный прием лекарств, раздражающих СОЖ, воздействие на СОЖ химических агентов, воздействие радиации, бактерии, грибы, паразиты.

Эндогенные факторы: генетические факторы, дуоденогастральный рефлюкс (ДГР), аутоиммунные факторы, эндогенные интоксикации, гипоксемия, хроническая инфекция, нарушение обмена веществ, эндокринные дисфункции, гиповитаминозы, рефлекторные влияния на желудок других пораженных органов [21].

Таким образом, наиболее значимыми являются следующие факторы, вызывающие ХГ. К ним относят аутоиммунные механизмы. В основе формирования аутоиммунного атрофического ХГ лежит образование антител к париетальным клеткам фундального отдела желудка. В результате происходит снижение выработки соляной кислоты и пепсина (гипохлоргидрия, ахлоргидрия и ахилия), атрофия СОЖ, преимущественно фундального отдела, снижение выработки внутреннего фактора Кастла и развитие В₁₂-дефицитной анемии, увеличение выработки гастрина G-клетками антрального отдела желудка [21].

К химическим факторам относится постоянная травматизация СОЖ забрасываемой желчью. Частота рефлюкс-гастрита составляет от 10 до 15% в общей структуре заболевания. К эндогенным причинам относятся трудные для верификации висцеро-висцеральные изменения; обменно-эндокринные нарушения; тканевая гипоксия на фоне легочно-сердечной недостаточности, портальной гипертензии, анемии, аллергические реакции [21].

Ведущим этиологическим фактором ХГ является *H. pylori*. Контаминацию слизистой желудка *H. pylori* при ХГ обнаруживают в 65—85 % случаев. Только менее 10% случаев приходится на аутоиммунный гастрит, редкие формы гастритов (лимфоцитарный, эозинофильный, гранулематозный), другие инфекционные агенты и химические вещества. Распространенность хронического гастрита в мировой популяции очень велика и составляет от 50 до

80%. При ХГ, связанном с *H. pylori*-инфекцией, первоначально поражается антральный отдел желудка с развитием неатрофического ХГ и признаками активности процесса (тип В). Со временем он может трансформироваться в атрофический антральный ХГ, который, распространяясь в антропокардиальном направлении, поражает и фундальный отдел желудка (тип АВ), сопровождается гиперплазией G-клеток и гипергастринемией. Этот процесс может длиться 15—18 лет [9, 15, 22, 35].

Бактерия была открыта в 1979 году австралийским патологом Робин Уорреном, который затем провёл дальнейшие исследования вместе с Барри Маршаллом. В 2005 году первооткрыватели медицинского значения *H. pylori* Робин Уоррен и Барри Маршалл были удостоены Нобелевской премии по медицине. Открытие бактерии *H. pylori* изменило существовавшие представления об этиологии хронического гастрита. В связи с чем началось разностороннее изучение процессов, происходящих в организме на молекулярном, клеточном и организменном уровне с привлечением иммунологических, молекулярно-биологических и гастроэнтрологических методов исследований [23].

Спиральная форма бактерии, от которой произошло родовое название *Helicobacter*, как полагают, определяет способность этого микроорганизма проникать в слизистую оболочку желудка и двенадцатиперстной кишки и облегчает движение бактерии в слизистом геле, покрывающем слизистую желудка [29]. *H. pylori* представляет собой неспорообразующую грамотрицательную бактерию, имеющую вид спиралевидно изогнутой палочки с закругленными полюсами [24].

Под действием неблагоприятных факторов внешней среды *H. pylori* обладает способностью образовывать кокковые формы. Это может быть связано как с дегенеративными изменениями, так и с переходом в неактивную фазу, что благоприятствует ее выживанию и может являться важным фактором в эпидемиологии и распространении бактерий. Кокковые формы теряют ферментативную активность и репродуктивную способность, устойчивы к внешним воздействиям, в том числе к действию антибактериальных препаратов. При этом у них редуцируется обмен веществ, что создает благоприятные условия для сохранения бактерий в кишечнике или во внешней среде, откуда они могут передаваться человеку фекально-оральным путем. Попав в благоприятные условия, такие формы *H. pylori* могут вновь трансформироваться в вегетативные формы, способные колонизировать слизистую оболочку желудка. Кокковидные клетки отличаются деталями строения клеточной стенки, что приводит к нарушению процесса узнавания бактерии иммунной системой хозяина (бактериальная мимикрия) [25].

Бактериальная клетка *H. pylori* окружена хлопьевидным слоем гликокаликса. Гликокаликс представляет собой гликопротеидный полианионный гель, поддерживающийся матрицей. На 99 % он состоит из воды, а также липополисахаридов и белков, необходимых для адгезии *H. pylori* на поверхности эпителиоцитов, вызывающих развитие воспаления слизистой

желудка [26]. Гликокаликс выполняет функцию анионного полимерного барьера и обладает способностью к образованию уреазы. Он обеспечивает невосприимчивость бактерии к антибиотикотерапии и защищает микроорганизм от иммунного ответа хозяина. Разрушение гликокаликса приводит к повреждению бактериальной клетки, а в дальнейшем и к ее гибели [25].

Наиболее благоприятными условиями существования бактерии являются температура 37–42 °С и рН среды 6-8. При более низких значениях рН (4-6) бактерии сохраняют свою жизнеспособность, но прекращают рост и размножение [27].

1.1.2 Патопфизиология ХГ при воздействии *H. Pylori*

В настоящее время объективно доказано, что бактерия *H. pylori*, колонизирующая СОЖ, служит возбудителем наиболее частого из вариантов гастрита. Установление этиологического значения *H. pylori* сделало ХГ четко очерченной и клинически значимой нозологической единицей с известной причиной и определенным патогенезом.[28].

Частота гастритических изменений СОЖ и их выраженность повышаются с возрастом больного, а также во многом зависят от места и условий проживания людей, что четко связано с инфицированностью *H. pylori* [21].

Однако у большинства инфицированных носителей *H.pylori* не обнаруживаются никаких симптомов заболевания [29].

По мнению ряда исследователей, *H. pylori* служат частью микробиоценоза человека и в зависимости от конкретных условий могут выступать как в качестве комменсалов, так и патогенов, являясь при этом лишь одним из местных факторов патогенеза гастродуоденальной патологии [20]. Для более полного понимания характера патологического процесса необходим комплексный анализ структурно-функциональных изменений слизистой оболочки желудка в зависимости от наличия и степени колонизации *H.pylori*, а также учет роли макроорганизма и других факторов неинфекционной и инфекционной природы [30].

H. pylori имеет достаточно широкий набор факторов патогенности, большинство из которых хорошо адаптированы к условиям паразитизма этого микроорганизма в желудке, обеспечивая ему выживание в кислой среде желудочного содержимого и колонизацию слизистой оболочки [25, 31, 32, 33, 34].

Важным фактором колонизации *H. pylori* является подвижность, связанная с наличием мощных жгутиков, которые обеспечивают быстрое движение микроорганизма в слое густой слизи вдоль градиента рН и служат одним из факторов его вирулентности, а также способствуют агрегации *H. pylori* на поверхности эпителия. Подвижность бактерии относят к эссенциальным (врожденным) факторам патогенности [32, 35].

Кроме того, наличие слоя гликокаликса, покрывающего бактериальную клетку, защищает ее от разрушающего действия соляной кислоты, что также способствует колонизации на слизистой оболочке желудка [32, 36].

Основное патогенетическое значение среди продуктов жизнедеятельности *H. pylori* имеют ферменты, а среди них уреазы. Она представляет собой никель-содержащий гексадимер и является маркером инфекции [37].

У *H. pylori* уреазы располагается не только в цитоплазме, но и на поверхности клеток [38]. Наличие внеклеточной уреазы имеет большое значение для выживания бактерии. Будучи сильным антигеном, фермент связывает антитела, которые могли бы повредить *H. pylori*, и комплекс уреазы-антитело удаляется с поверхности клеток. После этого свободная уреазы вновь появляется на поверхности клеток [36].

Помимо этого, уреазы *H. pylori* действует как токсин. Благодаря ее воздействию на мочевины, выделяющуюся в просвет желудка, образуется аммиак. Аммиак действует на эндокринные клетки СОЖ. При этом происходит усиление секреции гастрина и угнетение продукции соматостатина, что потенцирует выделение соляной кислоты и способствует формированию гиперацидного состояния [38]. Также, ионы аммония усиливают воспалительные реакции за счет активации моноцитов и нейтрофилов, стимуляции секреции цитокинов, образования радикалов кислорода и окиси азота. Кроме того, большая субъединица уреазы (UreB) действует как аттрактант для лейкоцитов [38]. Продукция большого количества уреазы способствует расщеплению мочевины с образованием углекислого газа и аммиака, который нейтрализует соляную кислоту желудочного сока, создавая вокруг бактерии локальную среду с pH=7, наиболее благоприятную для его существования [34].

Помимо уреазы, *H. pylori* способна секретировать во внешнюю среду литические ферменты — липазу, муциназу, протеазу, каталазу. Фосфолипазы бактерий гидролизуют фосфолипиды мембран желудочных клеток и желчи с образованием высокотоксичных лизолецитинов, а также разрушают гидрофобный слой слизи, содержащий фосфолипиды и предохраняющий эпителий от прямого воздействия соляной кислоты и пепсина [34].

Протеаза разрушает защитные белковые комплексы, а муциназа – белок муцин, содержащийся в желудочной слизи. Вследствие этого вокруг бактерии формируется зона локального снижения вязкости желудочной слизи, уменьшаются ее гидрофобные свойства и толщина, нарушается слоистая структура геля слизи. В дальнейшем, *H. pylori* подавляет также и процесс синтеза муцина в желудке [34].

Установлено, что выделение каталазы позволяет *H. pylori* подавлять иммунный ответ организма, этот фермент адаптации катализирует реакцию превращения бактерицидных соединений кислорода, высвобождаемых активированными в результате инфекции нейтрофилами, в такие безвредные вещества, как кислород и вода, что позволяет *H. pylori* избежать деструктивного воздействия со стороны нейтрофилов [31].

Липополисахариды и белки наружной оболочки бактерии обладают свойством адгезии к клеткам слизистой оболочки желудка, что индуцирует иммунный ответ организма хозяина и развитие воспаления [25].

Постоянное воспаление в СОЖ сопровождается нарушением клеточного обновления (увеличением пролиферативного потенциала и апоптоза). Некрозы в СОЖ при *H. pylori* - ассоциированных заболеваниях происходят редко. Гибель клеток СОЖ при хеликобактерной инфекции происходит практически всегда через апоптоз [43].

Считается, что лимфоциты выделяют интерлейкины, факторы роста, реализуют свои эффекты через рецепторы, экспрессированные на мембране эпителиоцитов, чье образование связано с действием аммония и токсинов, продуцируемых *H. pylori*. Так, установлено, что при хеликобактерном гастрите в значительной мере увеличивается численность рецепторов к эпидермальному фактору роста. Данный механизм увеличения пролиферации является одним из самых мощных. Ускоренная пролиферация приводит к более быстрому перемещению не до конца дифференцированных эпителиоцитов из генеративной зоны в зоны расположения зрелых в функциональном плане клеток. Таким образом, формирование полноценных желудочных желез не происходит. Доказывается, что развитие атрофии слизистой при ХГ в большей мере ассоциируется с *Cag*- и *Vac*-положительными штаммами *H. pylori*, способными в значительной мере усиливать пролиферацию эпителиоцитов СОЖ, но мало влияющих на их апоптозную активность. Специальная «инъекционная система», имеющаяся у *H. pylori*, предназначена для непосредственного впрыскивания в клетки слизистой оболочки желудка различных эффекторных белков (в частности, продуктов гена *cagA*), вызывающих воспаление, повышение продукции интерлейкина-8, угнетение апоптоза и избыточный рост определенных типов клеток. Полагают, что именно этим обусловлена наблюдающаяся при инфицировании хеликобактером гиперплазия париетальных клеток желудка, гиперсекреция соляной кислоты и пепсина, низкая степень апоптоза и высокая — пролиферации, что обеспечивает риск возникновения мутаций и рака желудка (РЖ) кишечного типа [25, 39].

Многочисленными исследованиями было показано, что генотип *H. pylori* оказывает влияние на исход заболевания [40, 41, 42, 43, 44, 45].

Основные следствия воздействия *H. pylori* на СОЖ: первичное контактное повреждение эпителиоцитов; инициация воспалительного каскада в СОЖ в виде активации клеточных элементов, вызывающих вторичное повреждение эпителиоцитов; увеличение продукции гастрина G-клетками и соответственно соляной кислоты и пепсина париетальными клетками; выраженное нарушение процессов клеточной регенерации.

В настоящее время эта инфекция признана в качестве главного этиопатогенетического фактора развития не только хронического гастрита и язвенной болезни, но и рака желудка. В здоровой слизистой оболочке желудка рак практически никогда не возникает [2, 46, 47].

В последние годы сформировалось представление о предраковой патологии желудка, в спектре которой *H. pylori* - ассоциированный гастрит занимает центральное место. Имеются данные, что персистенция инфекции *H. pylori* увеличивает риск развития рака желудка в 4–6 раз, особенно в случаях инфицирования в детском возрасте, в целом до 80 % аденокарцином желудка связаны с *H. pylori* - ассоциированным хроническим гастритом. В 1994 г. Международное агентство по изучению рака (IARC) классифицировало *H. pylori* в качестве канцерогена I класса у человека, что свидетельствует о наличии достаточно надежных доказательств [48].

1.1.3 Иммунный ответ при ХГ - ассоциированном с *H. pylori*

Для инфекции *H. pylori* свойственна длительная персистенция на СОЖ с развитием воспалительной инфильтрации ее собственной пластинки. Инфицирование *H. pylori* всегда ведет к развитию иммунного ответа, чаще всего не заканчивающегося полной элиминацией возбудителя. В первую очередь это связано с тем, что в отличие от других внеклеточных возбудителей *H. pylori* вызывает иммунный ответ преимущественно первого типа, сопровождающийся активацией клеточного звена иммунитета [28].

Развитие нейтрофильной инфильтрации собственной пластинки СОЖ связано с двумя различными механизмами. Прямой механизм реализуется через выделение *H. pylori* активирующего нейтрофилы белка, а опосредованный – через стимуляцию экспрессии эпителиоцитами интерлейкина-8 с последующим запуском сложного воспалительного каскада [39].

В состав воспалительного инфильтрата собственной пластинки слизистой при хеликобактерном гастрите кроме полиморфно-ядерных лейкоцитов входят В-лимфоциты, Т-лимфоциты, плазматические клетки и макрофаги. Из Т-лимфоцитов преобладает Th-2-тип, который определяет персистирование бактерий и хронизацию гастрита. Мигрирующие в СОЖ гранулоциты посредством выделения активных форм кислорода и соединений азота повреждают эпителиальные клетки и непосредственно их ДНК и интенсивно продуцируют провоспалительные цитокины. А также происходит перекисное окисление липидов и окисление белка. «Окислительный взрыв» нейтрофилов наблюдается спустя очень короткое время после контакта их с *H. pylori*, что обусловлено его способностью выделять водорастворимый белок, активирующий нейтрофилы. В таких условиях на фоне прогрессирования воспаления в одних случаях имеют место повреждение и гибель эпителиоцитов с формированием эрозивных и язвенных дефектов, а в других постепенно формируются атрофия, метаплазия и неоплазия СОЖ [28].

Другой значимой особенностью патогенеза инфекции *H. pylori* являются несостоятельность гуморального иммунитета и отсутствие эрадикации под воздействием антихеликобактерных антител. Данный факт обычно объясняется “недоступностью” бактерии для антител в слое желудочной слизи,

невозможностью выделения IgG в просвет желудка при относительном дефиците секреторных IgA, а также “антигенной мимикрией” бактерии [22].

H. pylori влияет также на эндокринные клетки за счет стимуляции секреции гастрина, что приводит к увеличению продукции HCl в желудке. Отмечена и способность *H. pylori* влиять на чувствительность рецепторов к холецистокинину и бомбезину. Установлено также воздействие *H. pylori* на клеточное обновление, которое реализуется скорее всего опосредованно – через различные интерлейкины (IL) и факторы роста, причем темп пролиферации коррелирует с выраженностью воспаления [22]. В патогенезе *H. pylori*-ассоциированного ХГ имеет значение уменьшение количества клеток, экспрессирующих IL-4, который действует как противовоспалительный цитокин. Кроме того, антигены *H. pylori* активируют макрофаги собственной пластинки, а они в свою очередь стимулируют образование провоспалительных цитокинов – IL-1, IL-8, фактора некроза опухоли- α (ФНО- α). Колонизация *H. pylori* вызывает местную иммунную реакцию: активированные макрофаги выделяют IL-12, обуславливающий высвобождение натуральными киллерами интерферона γ , что изменяет местный иммунный ответ, который приобретает провоспалительный характер [22].

Несмотря на то что ХГ развивается у всех людей, инфицированных *H. pylori*, какие-либо клинические проявления имеются далеко не в каждом случае. В целом для *H. pylori*-позитивных пациентов риск развития язвенной болезни и рака желудка в течение жизни составляет 10–20 и 1–2 % соответственно. У лиц с нормальной или высокой секреторной активностью париетальных клеток соляная кислота подавляет рост *H. pylori* в теле желудка и бактерия интенсивно колонизирует только антральный отдел, вызывая, соответственно, ограниченный антральный гастрит. Хроническое воспаление в антральном отделе ведет к гипергастринемии и гиперхлоргидрии, закислению полости двенадцатиперстной кишки (ДПК) и появлению дуоденальной язвы. У пациентов с пониженным уровнем секреции соляной кислоты *H. pylori* беспрепятственно колонизирует слизистую оболочку тела желудка, вызывая пангастрит. Хроническое активное воспаление через эффекты ряда цитокинов еще больше ингибирует функцию париетальных клеток, а в дальнейшем вызывает развитие атрофии и метаплазии главных желез. В итоге у данной категории больных значительно повышается риск развития рака желудка [28].

Еще в 1975 г. была выдвинута парадигма Коррея в отношении возникновения дифференцированного рака желудочного типа, развитие которого происходит на фоне хронического воспаления СОЖ, вызванного *H. pylori*. В 60–80 % рак кишечного типа ассоциирован с антрумом. В зависимости от интенсивности течения воспаления, причин вызывающих его, длительности действия этиологического фактора, его агрессивности этот путь может составлять 15–20 лет [22, 28, 39].

1.2 Общая характеристика хронического атрофического гастрита

Атрофический гастрит — хронический гастрит с истончением слизистой оболочки, уменьшением количества желез и секреторной недостаточностью желудка.

Клетки эпителия сохранившихся желез желудка подвергаются дисрегенераторным изменениям: снижается количество главных и париетальных клеток, происходит мукоидизация главных клеток, появляются клетки-гибриды, сочетающие в себе признаки разных клеток [1]. Атрофический гастрит представляет собой заболевание, протекающее бессимптомно или проявляющееся неспецифической симптоматикой в течение многих лет и часто остающееся недиагностированным. Многочисленные исследования показали, что риск развития рака желудка повышается параллельно тяжести атрофического гастрита, а вероятность развития рака желудка прямо пропорциональна степени атрофических изменений, выявляемых одновременно в антральном отделе и в теле желудка. В 50 % случаев атрофический гастрит сочетается с элементами структурной перестройки слизистой оболочки (кишечная метаплазия, пилорическая метаплазия фундальных желез, ворсинчатая метаплазия, панкреатическая метаплазия, дисплазия или неоплазия эпителия) [49].

Развитие атрофии в СОЖ связано с аутоиммунным гастритом или с прогрессированием хеликобактерного гастрита. Доказано, что не менее 2/3 случаев атрофического гастрита ассоциировано с *H. pylori*. Чем выше обсемененность *H. pylori* СОЖ, тем выраженнее воспалительный процесс и апоптоз [39].

Хронический атрофический гастрит относят к предраковым состояниям желудка, на фоне данного заболевания часто развиваются такие предраковые изменения, как кишечная метаплазия и дисплазия эпителия слизистой желудка, а также гиперпролиферация эпителия слизистой желудка, способствующая развитию опухолей [1, 15, 49, 50].

1.2.1 Этиология ХАГ

Возникновение и прогрессирование атрофического хронического гастрита (ХАГ) обусловлено воздействием на слизистую оболочку желудка (СОЖ) множества факторов, которые приводят к хроническому воспалению, атрофии желез и метаплазии СОЖ. Существуют две группы этиологических факторов ХАГ – экзогенные и эндогенные [51].

Экзогенные факторы, способствующие возникновению ХАГ:[51] инфицирование *H. pylori*; злоупотребление алкоголем; курение; длительный прием лекарств, раздражающих СОЖ; воздействие на СОЖ химических агентов; воздействие радиации; другие бактерии (кроме *H. pylori*); грибы; паразиты.

Эндогенные факторы, способствующие возникновению ХАГ:[51] генетические факторы; дуоденогастральный рефлюкс; аутоиммунные факторы; ХАГ чаще всего является ассоциированным с хеликобактерной инфекцией или с аутоиммунным воспалительным процессом. Атрофический

гастрит также развивается при образовании антител к париетальным (обкладочным) клеткам фундального отдела желудка (дна желудка – наиболее верхней его части) [52].

Атрофический гастрит, связанный с инфекцией *Helicobacter pylori* обычно образуется после поверхностного ХГ. И является следующей ступенью на пути к раку желудка [52].

Выраженный атрофический гастрит, являющийся важнейшим фактором риска развития рака желудка, может появиться, по крайней мере, у 10% лиц, инфицированных *H. pylori* [9].

Воспалительные процессы на фоне инфекции вызывают, начально, повышение уровня пепсиногенов. Лица, инфицированные *H. pylori*, демонстрируют в среднем более высокие концентрации пепсиногенов I и II и сниженное соотношение пепсиногенов I/II. В результате хронического воспаления постепенное развитие атрофических изменений слизистой желудка приводит к градуальному снижению уровня пепсиногена I, в то время как уровень пепсиногена II остается длительное время достаточно стабильным. Как результат, постепенное снижение уровня пепсиногена I и уменьшение величины соотношения пепсиногенов I/II тесно коррелируют с прогрессией изменений от нормальной слизистой желудка до выраженного атрофического гастрита. Соотношение пепсиногенов I/II показывает более строгую взаимосвязь с гистологическими изменениями слизистой оболочки, чем изолированное измерение уровня пепсиногена I или II [53].

Поскольку роль *H. pylori* в качестве этиологического фактора воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка доказана, эрадикационное лечение в настоящее время расценивают как одно из наиболее перспективных направлений профилактики рака желудка. Согласно результатам проспективных исследований, у 1—3 % *H. pylori*-позитивных лиц ежегодно формируется атрофический гастрит, в течение жизни атрофия слизистой оболочки желудка возникает у 50 % инфицированных лиц. Инфекция *H. pylori* увеличивает риск развития предраковых изменений в 4—9 раз (особенно если заражение произошло в детском возрасте), хеликобактерный гастрит увеличивает риск развития некардинального рака желудка в 6 раз. У лиц с инфекцией *H. pylori* по сравнению с неинфицированными индивидуумами риск развития рака желудка увеличен в 4—6 раз, кроме того, этот риск коррелирует с длительностью персистенции *H. pylori*, что совпадает с тенденцией увеличения заболеваемости раком желудка в более старших возрастных группах [15].

1.2.2 Патофизиология ХАГ

Если хронический атрофический гастрит начинается с воспаления слизистой оболочки желудка в его антральном отделе, то его патогенез связан с *Helicobacter pylori*. Постепенно прогрессирующее воспаление слизистой оболочки антрального отдела приводит к атрофии слизистой оболочки. На поздней стадии болезни атрофия приводит к исчезновению париетальных клеток. Поэтому до атрофии с исчезновением обкладочных клеток секреция

соляной кислоты не претерпевает патологических изменений, а секреция гастрина, которая растет при снижении рН (увеличении концентрации протонов) в просвете желудка и его стенке, также находится на нормальном уровне. Данные изменения связаны с высоким риском рака желудка и часто приводят к образованию язв антрального отдела [54].

С *H. pylori* связывают возникновение подавляющего большинства атрофических гастритов. Бактерии *H. pylori*, персистируя на желудочном эпителии, вызывают хронический хеликобактерный поверхностный гастрит. Длительно существующий поверхностный хеликобактерный гастрит без соответствующего лечения трансформируется в атрофический. Мультифокальный атрофический гастрит характеризуется вовлечением тела и антрального отдела желудка с прогрессирующим развитием атрофических изменений слизистой – уменьшением количества желез и их частичным замещением кишечным эпителием (кишечная метаплазия). Пациенты с данным видом хронического гастрита имеют повышенный риск развития карциномы желудка [1, 39, 55, 56].

Взаимосвязь хронического гастрита и РЖ была доказана рядом научных исследований как за рубежом, так и в России. Было отмечено, что необходимым условием для возникновения РЖ является нарушение клеточного обновления — КМ и атрофия слизистой оболочки, создающие предпосылки для дисплазии эпителия, - практически облигатного предракового состояния. Данный каскад патологических явлений (атрофия, метаплазия, дисплазия) в качестве модели развития РЖ предложил в 1988 г. P.Correa. Указанная последовательность патологических явлений в последние годы стала широко известна и получила название парадигмы желудочного канцерогенеза. Таким образом, хеликобактерная инфекция, хронический гастрит, атрофия, кишечная метаплазия и рак желудка — звенья одной цепи, характеризующиеся развитием дисрегенераторных изменений эпителия, создающего, в свою очередь, фон для развития РЖ кишечного типа. Возможность предотвратить развитие РЖ обусловлена потенциальной обратимостью этих изменений, что, в свою очередь, зависит от их ранней диагностики. На стадии атрофии ХГ многократно увеличивается риск развития РЖ, поэтому верификация атрофии имеет важнейшее клиническое значение с позиций вторичной профилактики РЖ [56].

Итак, мы можем сказать, что ХАГ возникает в большинстве случаев благодаря длительному и неоднократному персистированию *H. pylori* на слизистой желудка, далее в отдельных участках желудочного эпителия идет атрофия клеток и истончение СОЖ вплоть до полного исчезновения, что приводит к нарушению работы пищеварительной системы, к образованию язв. Таким образом, эпителиальные клетки подвергаются воздействию соляной кислоты, ферментов желудочного сока и ферментов *H. pylori*, что в свою очередь приводит к активации иммунного ответа в виде выработки цитокинов и функционирования цитокинового каскада. А также происходит активация нейтрофилов и их инфильтрация в клетках эпителия желудка, и затем мы наблюдаем метаплазию, дисплазию и в конечном итоге рак желудка.

1.2.3 Осложнения вызванные ХАГ

В 50% случаев атрофический гастрит сочетается с элементами «структурной перестройки» слизистой оболочки (КМ, пилорическая метаплазия фундальных желез, ворсинчатая метаплазия, панкреатическая метаплазия, дисплазия или неоплазия эпителия) [57].

В настоящее время принято выделять два типа КМ: полную, напоминающую тонкую кишку и неполную — толстую. Эти типы отличаются не объемом, а по соотношению клеточных элементов и по некоторым их гистохимическим свойствам. Полная КМ не имеет морфологических сходств с дисплазией, отчасти поэтому данный тип не относят к предраковым изменениям. Для нее характерно наличие всех клеток, свойственных тонкой кишке, которые обычно выстилают регулярные тубулярные образования. При неполной КМ бокаловидные клетки расположены среди высоких призматических клеток, напоминающих колоноциты. Наиболее часто при ХГ встречается полная КМ. Неполную метаплазию находят всего у 11% больных всеми доброкачественными заболеваниями желудка. Выявление неполной КМ показало высокую специфичность этого признака (98%) для РЖ, однако чувствительность оказалась достаточно низкой — всего 38%, что свидетельствует об ограниченном значении неполной КМ как показателя прогноза развития РЖ кишечного типа. То, что полная КМ распространена значительно шире, чем неполная, и то, что они нередко сочетаются, позволяет предположить, что неполная метаплазия развивается из полной. Могут быть два вида сочетания этих типов КМ. Чаще они видны в соседних участках слизистой оболочки, реже — в пределах одной железы [58, 59].

Дисплазия, являющая собой более высокую ступень канцерогенеза, — это процесс, при котором наблюдается патологическая пролиферация, клетки с признаками атипии, а также стратификация клеточных слоев. В зависимости от выраженности ядерной и клеточной атипии различают дисплазию низкой, умеренной и высокой степени, процесс прогрессирования от степени к степени может занимать от 3 мес. до 2 лет. При этом риск перехода низкой степени дисплазии в высокую достигает 10%, а риск развития РЖ при наличии высокой степени дисплазии — 50—96%. Вероятность регрессии высокой степени дисплазии в умеренную составляет 10%. В то же время дисплазия низкой степени в 60% случаев может быть обратимой, что очень важно для принятия мер в случае раннего ее выявления [58, 60].

Осложнение атрофического гастрита — рак (злокачественная опухоль) желудка. Известный факт, что атрофический гастрит имеет высокий риск трансформации в рак желудка. Особенно онкологическую напряженность вызывает атрофический гастрит с пониженной кислотностью. По понятным причинам при атрофии слизистой оболочки создаются благоприятные условия для негативного влияния канцерогенов и значительно уменьшается противоопухолевая защита желудка [61].

Рак желудка характеризуется многофакторной природой возникновения, стабильно высокой заболеваемостью, низкой 5 летней выживаемостью, крайне

неблагоприятным прогнозом. Известно, что рак желудка редко возникает на фоне неизменной слизистой оболочки желудка. Чаще ему предшествуют процессы, обозначаемые как «предраковые». К основным предраковым заболеваниям желудка относят хронический атрофический гастрит. По данным различных авторов, хронический гастрит может быть диагностирован у 50–80 % взрослых лиц. Длительное течение хронического гастрита способствует глубоким дистрофическим и атрофическим изменениям слизистой оболочки желудка с высокой вероятностью дисплазии и энтеролизуляции. При этом появление в слизистой оболочке желудка атрофии и изменений, считающихся предраковыми (кишечной метаплазии и дисплазии), создает условия для канцерогенеза желудка [62].

Желудочный канцерогенез — это длительный процесс, представляющий собой каскад изменений, происходящих в слизистой оболочке желудка. Колонизация *H. pylori* инициирует воспалительный процесс в слизистой оболочке антрального отдела, а затем и тела желудка. Хроническое воспаление в желудке нарушает баланс процессов пролиферации, апоптоза, что приводит к развитию процессов атрофии, кишечной метаплазии, накоплению генетических мутаций и запускает цепь событий, которые через хронический атрофический гастрит приводят к дисплазии и раку желудка [63].

1.3 Общая характеристика цитокинов

Течение физиологических процессов и выраженность патологических реакций в организме контролируются нейро-эндокринно-иммунными воздействиями, среди которых важную роль играют цитокины. Цитокиновой регуляцией обеспечиваются пролиферация, дифференцировка, функционирование клеток, межклеточные и межсистемные взаимодействия, направление и характер иммунного ответа на внедрение патогенов инфекционного и неинфекционного генеза [64].

Установлено, что цитокины не однородны по строению, функциональной активности, клеткам-продуцентам [64]. Наибольшее число медиаторов иммунитета, открытых как продукт и факторы взаимодействия лейкоцитов, отнесено к интерлейкинам (IL). Изучение сывороточных и тканевых концентраций цитокинов с определением их патогенетического значения при соматических заболеваниях различной локализации представляет значительный научно-практический интерес, способствуя уточнению и модификации диагностических алгоритмов, индивидуальной иммунокоррекции лечения [65].

Цитокины активны в очень малых концентрациях. Их биологический эффект на клетки реализуется через взаимодействие со специфическим рецептором, локализованным на клеточной цитоплазматической мембране. Образование и секреция цитокинов происходит кратковременно и строго регулируется [66].

Все цитокины по структурным особенностям и биологическому действию делятся на несколько самостоятельных групп. Группировка цитокинов по механизму действия позволяет разделить цитокины на следующие группы: провоспалительные, обеспечивающие мобилизацию воспалительного ответа

(интерлейкины 1,2,6,8, ФНО α , интерферон γ); противовоспалительные, ограничивающие развитие воспаления (интерлейкины 4,10, TGF β) [66].

Спектры биологических активностей цитокинов в значительной степени перекрываются: один и тот же процесс может стимулироваться в клетке более чем одним цитокином. Во многих случаях в действиях цитокинов наблюдается синергизм [67].

К цитокинам относятся интерфероны (IFN), интерлейкины (IL), хемокины, факторы некроза опухоли (ФНО), колониестимулирующие факторы (КСФ), факторы роста. Цитокины действуют по эстафетному принципу: воздействие цитокина на клетку вызовет образование ею других цитокинов (цитокиновый каскад) [68].

1.4 Цитокины при ХГ и ХАГ

Секреция цитокинов коррелирует с тяжестью хронического гастрита, определяемого по Сиднейской системе [69]. При инфицировании *CagA*(+) штаммами *H.pylori*, которые обладают наибольшей токсигенностью, наблюдается повышенная локальная продукция IL-1 β и IL-8 [69].

Первоначально индукция воспалительного ответа происходит в ответ на увеличение продукции интерлейкинов, определяющих реакции локального иммунитета. Это значит, что синтез цитокинов при *H.pylori* -ассоциированных заболеваниях носит разный характер в зависимости от локализации патологического процесса [11].

Между концентрацией сывороточных и тканевых цитокинов имеется определенная корреляция, что отражает динамику процессов, происходящих в слизистой оболочке желудка. Содержание интерлейкинов в сыворотке крови зависит от их поступления в кровь и вовлечения системных реакций иммунитета в воспалительный ответ. На концентрацию цитокинов в кровотоке оказывают влияние продолжительность заболевания и частота рецидивов. Чаще всего на ранних сроках обострения преобладает продукция IL-1 β , IL-2 и IL-8, в более позднем периоде – повышаются уровни TNF α , IL-6 и IFN γ . Однако концентрация и спектр цитокинов в сыворотке крови не могут в полной мере отражать течение патологического процесса в слизистой оболочке желудка [11].

Это обусловлено многими факторами, среди которых следует отметить: соотношение рецепторов-агонистов и антагонистов, инактивация циркулирующих цитокинов, величина рН, антиоксидантный потенциал клетки, истощение цитокин-продуцирующей способности клеток при длительной антигенной стимуляции, нарушениями функциональной активности иммунной системы, в частности Т-хелперов, и продукции цитокинов [70].

Механизмы взаимодействия локального и системного иммунитета при развитии *H.pylori*-ассоциированных заболеваний являются немаловажными. Специфическое распознавание *H.pylori* и связывание с антигенами патогена приводит к активации лимфоцитов и клональной экспансии. После дифференцировки Th0-клеток в Th1 и Th2 формируются клеточный и гуморальный пулы клеток-эффекторов локального иммунного ответа. В

дальнейшем, образовавшиеся в большом количестве цитотоксические Т-лимфоциты многократно рециркулируют, попадая сначала в лимфу, затем в кровь [11].

Итак, цитотоксические Т-лимфоциты мигрируют по всему организму и поражают клетки-мишени [64]. Следует отметить, что воспаление сопровождается усилением проницаемости сосудов и поступлением медиаторов в кровоток. Данное явление приводит к проявлениям местной и общей воспалительной реакции, к активации гуморального звена иммунного ответа и циркуляции в системном кровотоке специфических IgG к *H. pylori*. Известно, что продукция антител зависит от многих факторов: иммуногенности белков возбудителя, функционирования системы факторов неспецифической защиты, наличия цитокинов Th2-пути иммунного ответа (IL-4 и IL-10) [11].

В этом отношении важную роль играют эпителиальные клетки, которые также участвуют в синтезе цитокинов. Кроме того, при длительном хроническом процессе продукция антител угнетается, чему также способствует ряд факторов, связанных с истощением макроорганизма и/или ингибирующим действием микроорганизма [71].

Таким образом, эффективность иммунологической защиты организма при инфицировании бактериальными патогенами обеспечивается балансом между локальными и системными клеточно-опосредованными реакциями. Дизрегуляция иммунного ответа предопределяет манифестацию клинических проявлений и характер развивающейся патологии. Характер взаимодействия патогена и организма хозяина определяется действием факторов патогенности, генетически детерминированных особенностей иммунного ответа [11].

Увеличение сывороточной концентрации ранних провоспалительных цитокинов – IL-1 β , IL-6, IL-8, определяет выраженность воспалительного и язвенозного процессов в СОЖ. Показано что IL-1 β , IL-6 имеют способность индуцировать на эндотелиоцитах экспрессию молекул адгезии, облегчающих миграцию моноцитов и нейтрофилов из сосудов в ткани. IL-8, увеличивая внутриклеточную концентрацию Ca²⁺, может стимулировать эндотелиальную адгезию нейтрофилов и экстравазацию, приводить к их дегрануляции, выбросу лизосомальных ферментов, лейкотриенов, активных кислородных радикалов, повреждающих СОЖ [65].

Кроме того, возможна реализация язвенозного действия глюкокортикостероидов, увеличение уровня которых опосредовано индукцией IL-1 β и способствует гиперсекреции соляной кислоты и пепсиногенов, уменьшению слизиобразования, ухудшению регенераторных процессов. Важным механизмом повреждения является нарушение кровоснабжения слизистой под действием IL-1 β , IL-8 за счет усиления свертывания крови, угнетения фибринолиза, развития тромбозов в микроциркуляторном русле и кровоизлияний в тканях. Прогрессированию воспалительного процесса, атрофических изменений СОЖ, созданию условий для колонизации *H. pylori* может способствовать выраженное угнетение секреции соляной кислоты под действием IL-1 β [65].

Таким образом, увеличение концентрации ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17, ИЛ-18 способствует реализации воспалительного, язвенного и атрофического процессов в СОЖ с постепенным компенсаторным включением цитопротективных и репаративных механизмов. Количество ИЛ-4 и ИЛ-10 в фазе обострения воспалительного и особенно язвенного процессов минимально, нарастает при прогрессировании атрофии СОЖ, ограничивая действие провоспалительных цитокинов и усиливая репарацию слизистой [65].

Исследования показали, что иммунный ответ на *H. pylori* развивается в течение первых нескольких дней после заражения [5]. Изменения в продукции провоспалительных цитокинов могут отражать тяжесть поражения СОЖ при инфекции *H. pylori*. Так, TNF α может вызывать увеличение продукции внутриклеточных реактивных форм кислорода, повреждающих ДНК и приводящих к мутациям. ИЛ-6 и ИЛ-8 повышают пролиферативную активность различных типов клеток, выживание и миграцию эндотелиальных клеток, оказывая тем самым стимулирующее влияние на ангиогенез, что в совокупности с повышенной генетической нестабильностью эпителиальных клеток приводит к накоплению атипических клеток, чем способствует возникновению и росту неоплазмы [5, 72].

Следовательно, повышенная потенциальная способность клеток крови к выработке цитокинов в условиях длительно сохраняющегося воспаления, создающего эффект «незаживающей раны», способствует возникновению клеточного атипизма в эпителии СОЖ. Такой атипизм идет за счет усиления деления незрелых клеток, которые могут стимулировать ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, наряду с ингибированием их дифференцировки под воздействием TNF α , а также включением механизмов избегания трансформированными клетками элиминации из организма за счет супрессии функций цитотоксических субпопуляций иммунокомпетентных клеток под влиянием ИЛ-10 [5].

1.4.1 ИЛ-2

Интерлейкин-2 — пептид, представитель группы интерлейкинов. Является медиатором воспаления и иммунитета. Продуцируется Т-клетками в ответ на антигенную и митогенную стимуляцию. Синтезируется в виде предшественника, зрелый белок состоит из 133 аминокислот и имеет молекулярную массу примерно 15,4 kDa. Необходим для пролиферации Т-клеток и других процессов, регулирующих иммунный ответ. Интерлейкин-2 действует через гетеротримерный комплекс рецептора ИЛ-2, состоящего из трех субъединиц: рецептор интерлейкина-2 альфа (CD25), рецептор интерлейкина-2 бета (CD122) и рецептор интерлейкина-2 гамма (CD132). Интерлейкин-2 активирует различные сигнальные пути, такие как Ras/MAPK (сигнальный путь митоген-активируемой протеинкиназы), JAK/Stat и PI3K/Akt (сигнальный путь фосфоинозитид-3-киназы) [73].

Интерлейкины являются неотъемлемыми участниками иммунных реакций. В частности, функции ИЛ-2 заключаются в направленной дифференцировке и пролиферации Th1 -лимфоцитов, стимуляции NK-клеток. В литературе обсуждается участие ИЛ-2 в *H. pylori*-индуцированном иммунном

ответе, в связи с тем, что данный цитокин является фактором, приводящим к атрофии и ингибированию желудочной секреции. Синтез IL-2 особенно активен у больных с преобладанием эрозивно-язвенных изменений слизистой [76].

IL-2 является фактором, который участвует в реализации Th1 -клеточных реакций. Уровень и скорость продукции цитокина может играть амбивалентную роль в патогенезе гастродуоденальной патологии. С одной стороны, эффективное воспаление слизистой оболочки желудка будет препятствовать колонизации патогена. С другой стороны, выраженность воспаления коррелирует с деструкцией собственных тканей. Вероятно, что снижение цитокина является плохим прогностическим признаком, свидетельствующим о гибели клеток-продуцентов IL-2 [76].

Считается, что при запуске специфического иммунитета в ответ на инфекционный агент продукция IL-2 активно увеличивается, развивается экспансия Т-лимфоцитов в очаг воспаления. Снижение IL-2 может свидетельствовать о развитии вторичной иммунологической недостаточности. Показано, что снижение количества цитотоксических лимфоцитов в ответ на *H. Pylori* коррелирует с низким уровнем продукции IL-2 лейкоцитами [10, 11].

Известно, что IL-2 может выступать как проапоптотический, так и антиапоптотический цитокин. Под действием IL-2 усиливается индукция клеточных рецепторов и образование FasL и TNF α цитокин вызывает повышение чувствительности Т-лимфоцитов к апоптозу. Действие цитокинов носит дозозависимый характер. В высоких концентрациях IL-2 обеспечивает устойчивость лимфоцитов к апоптотической гибели [10].

Апоптоз клеток иммунокомпетентного звена играет важную роль в поддержании регуляции и исхода воспаления. Повышение апоптоза приводит к дефициту иммунных клеток, изменению субпопуляционного состава лимфоцитов и является одним из проявлений нарушений иммунореактивности. У больных хроническим гастритом наряду с изменением числа клеток лимфоцитарного звена, отмечались разной степени выраженности, изменения апоптотической гибели лимфоцитов крови. Обнаруженные закономерности реализации апоптотической гибели иммунных клеток могут являться результатом модулирующего влияния IL-2 и IL-4 и определяются дозой цитокинов [10].

По результатам Матвеевой Л.В. и соавторов увеличение IL-2, медиатора пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов, максимальное при распространенном атрофическом гастрите, может способствовать как индукции повреждающего действия цитотоксических лимфоцитов, так и реализации противоопухолевого эффекта, что особенно актуально в условиях дисплазии СОЖ [65].

1.4.2 IL-8

Интерлейкин 8, или хемокин CXCL8 — один из основных провоспалительных хемокинов, образуемый макрофагами, нейтрофилами, лимфоцитами, фибробластами, эпителиальными и

эндотелиальными клетками. Играет также важную роль в системе врождённого иммунитета. Относится к хемокинам подсемейства CXC. На клетках-мишенях связывается с двумя рецепторами CXCR1 и CXCR2, первый из которых характеризуется более высокой эффективностью. Интерлейкин-8 состоит из 72 аминокислот, молекулярная масса 8,8 кДа. Хемокины этого подсемейства содержат 4 цистеина, образующих 2 дисульфидные связи, формируя специфическую трёхмерную конфигурацию белка, необходимую для связывания с рецепторами интерлейкина-8 [73].

Производство IL-8 стимулируют провоспалительные цитокины: IL-1 β и TNF- α , в то время как IFN- γ , наоборот, ингибирует. В ответ на адгезию *H. pylori* на эпителиоцитах слизистой оболочки желудка, клетки продуцируют широкий спектр провоспалительных цитокинов, участвующих в иммунном ответе, при этом особая роль отводится IL-8 [73].

IL-8 выполняет функцию хемотаксического фактора для нейтрофилов, вызывает экспрессию молекул межклеточной адгезии и усиливает прилипание нейтрофилов к эндотелиальным клеткам и субэндотелиальным матричным белкам, способствуя их проникновению из сосудистого русла в инфицированные ткани [74].

IL-8 является наиболее изученным цитокином, связанным с воспалением, вызванным *H. pylori*. LPS *H. pylori* вызывает стимуляцию продукции IL-8 макрофагами или клетками кишечного эпителия. Это происходит за счет активации нуклеарного фактора NF- κ B и сигнального пути каскадов MAPK. При инфекции *H. pylori* продукция цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-18 и TNF- α в СОЖ значительно повышена, что указывает на развитие воспалительного ответа [72].

IL-8 идентифицируется как маркер «адаптивного иммунитета» на персистенцию *H. pylori* в организме. Цитокин является медиатором Th1-пути иммунного ответа, фактором дифференцировки и рекрутирования клеток-эффекторов воспаления, а, следовательно, и выраженности иммунной защиты. При *H. pylori* -инфекции увеличение уровня IL-8 стимулирует хемотаксис нейтрофилов. Кроме того, синтез IL-8 может быть вызван и воздействием других провоспалительных медиаторов (например, IL-1 β , TNF α). В свою очередь, IL-8 стимулирует продукцию таких цитокинов, как TNF α , IFN γ и IL-1 β [11].

В присутствии IL-8 отмечается более активная инфильтрация слизистой оболочки желудка нейтрофилами, выраженная воспалительная реакция. Активированные нейтрофилы генерируют активные формы кислорода, оксида азота, супероксидные радикалы, эффекты которых сопряжены с повреждением собственных клеток слизистой оболочки желудка. Таким образом, уровень продукции цитокина ассоциирован с выраженностью и характером развития воспаления в слизистой оболочке желудка [74].

Высокий уровень продукции IL-8 отражает активность воспалительного процесса, а также свидетельствует о происходящих альтеративно-деструктивных процессах в слизистой оболочке желудка под воздействием

активированных нейтрофилов. Вероятно, поддержание высокой спонтанной продукции цитокина обусловлено несколькими причинами. Во-первых, IL-8, как и другие хемокины синтезируют многие типы клеток, в данном случае нейтрофилы, лимфоциты и моноциты периферической крови. Во-вторых, экспрессия интерлейкина быстро возрастает при активации клетки-продуцента, в данном случае активированные нейтрофилы сами начинают продуцировать IL-8, что приводит к дополнительной стимуляции процесса выработки данного цитокина [75].

Также, вероятно, что *H. pylori* целенаправленно вызывает чрезмерную активацию и быстрое истощение клеток иммунной системы, что в последующем приводит к сбрасыванию рецепторов с поверхности клеток и развитию синдрома «иммунологического парализиса». У больных с хроническим гастритом повышенная секреция IL-8, вероятно, поддерживается интенсивностью клеточного ответа на бактериальную обсемененность. При этом активация нейтрофилов, генерация активных форм кислорода оказывают цитопатический эффект в отношении эпителиоцитов слизистой оболочки желудка. Одновременный с этим выброс цитокинов-медиаторов, которые способствуют привлечению других иммунокомпетентных клеток, формирует порочный круг и усиление воспалительной реакции [76].

При ХАГ супрессирование апоптоза нейтрофилов приводит к снижению фагоцитарной реакции, что отражается в снижении значения фагоцитарного числа. Следовательно, подавление поглотительной способности нейтрофилов позволяет бактерии уходить от иммунологического надзора и длительно персистировать в слизистой оболочке желудка, приводя к дальнейшим деструктивным процессам [72].

Гиперпродукция IL-8 при ХАГ приводит к абсолютному повышению палочкоядерных нейтрофилов в периферической крови и снижению их фагоцитарной активности. Вероятно, особенности продукции IL-8 способствуют нарушению защитных механизмов организма и длительной персистенции патогена [72].

1.4.3 TNF- α

Фактор некроза опухоли (ФНО, TNF) — внеклеточный белок, многофункциональный провоспалительный цитокин, синтезирующийся в основном моноцитами и макрофагами. Влияет на липидный метаболизм, коагуляцию, устойчивость к инсулину, функционирование эндотелия, стимулирует продукцию IL-1, IL-6, IL-8, интерферона-гамма, активирует лейкоциты. Активирует ядерный транскрипционный фактор NF- κ B. Избыточная продукция ФНО вызывает расстройства гемодинамики, цитотоксический эффект на клетки организма. ФНО синтезируется как мембранный белок с молекулярной массой 26 кДа. После действия специфической металлопротеазы, т. н. ФНО-конвертирующего фермента (ADAM17), мембрано-связывающий фрагмент отщепляется и образуется растворимый ФНО с молекулярной массой 17 кДа. Активной формой белка является гомотример, теряющий активность при диссоциации субъединиц, так

как только тример способен связываться с рецептором и олигомеризовать его, что необходимо для запуска сигнального пути. Молекула цитокина образует бета-складчатую структуру [73].

Цитокины Th1-поляризованного иммунного ответа, к которым относится ФНО- α влияют на регуляцию кислотообразования в желудке, вызывают убыль клеток и связанные с этим язвенные дефекты или атрофию желез, а также клеточную пролиферацию, метаплазию, и эпителиальную дисплазию [77].

TNF α свидетельствует о деструктивно-воспалительных процессах, замедлении репарации, регенерации, рубцевании язвенных дефектов, а также усилении апоптотической гибели клеток. Отмечается цитотоксическое влияние TNF α на иммунные клетки, либо снижение активационного сигнала в результате TNF α -зависимой атрофии слизистой оболочки желудка при ХАГ [11].

Известно, что в очаге воспаления TNF α запускает «цитокиновый каскад», увеличивает продукцию IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10, оказывая провоспалительную функцию, а, следовательно, увеличивая повреждение слизистой оболочки желудка. Эффекты цитокина зависят от его концентрации. Гиперпродукция TNF α может быть одним из основных механизмов активации инфекционного процесса при переходе от бессимптомного носительства к фазе клинических проявлений, что свидетельствует о прогрессировании заболевания. Кроме того, уровень цитокина в сыворотке крови значительно увеличивается при антигенной нагрузке, а так же в результате генетического полиморфизма [6].

По результатам Ефремовой А.В. можно отметить, что при атрофическом гастрите наблюдается увеличение концентрации TNF α . Данный факт, несомненно, является одним из звеньев иммунопатогенеза *H. pylori*-ассоциированного атрофического гастрита [6].

1.4.4 IL-4

Интерлейкин-4 — регулятор роста и дифференциации В-лимфоцитов (молекулярная масса 19 кД), а также процесса биосинтеза ими антител. Продуцируется активированными CD4⁺ Т-лимфоцитами (Th2), тучными клетками, эозинофилами. Оказывает существенное влияние на процессы продуцирования IgE и IgG1, переключения С генов иммуноглобулинов на активацию Th2 типа, накопление эозинофилов, экспрессию на В-лимфоцитах и тучных клетках низкоаффинного рецептора для IgE (CD23). Является антагонистом процесса дифференциации CD4⁺ Th1 типа и продуцирования ими цитокинов. Подавляет активность макрофагов и процесс биосинтеза ими цитокинов — IL-1, ФНО, IL-6, то есть оказывает противовоспалительный эффект [73].

IL-4 является основным фактором в определении дифференцировки стимулированных антигеном наивных CD4⁺-Т-клеток в Th2. Продукция IL-4 Th2-клетками ведет к сильной клональной пролиферации и экспансии активированных В-клеток. При этом функцию антигенпредставляющих клеток для Т-хелперных клеток, дифференцирующихся по Th2-пути, выполняют В-лимфоциты [11].

Так как IL-4 регулирует продукцию IgE В-лимфоцитами и экспрессию синтазы лейкотриена C₄, то можно сделать вывод о корреляционной взаимосвязи между уровнем IL-4 и инфекцией *H.pylori*, с одной стороны, и уровнем специфических IgG к *H.pylori* в слизистой оболочке желудка – с другой. Кроме того, IL-4 ингибирует продукцию мононуклеарными лейкоцитами провоспалительных цитокинов и хемокинов TNF, IL-1 β , IL-12, продукцию макрофагами супероксидных и нитроксидных радикалов и нарушает ответ макрофагов на действие отдельных субклассов иммуноглобулинов, изменяя экспрессию соответствующих рецепторов [11].

Показана взаимосвязь между концентрацией IL-4 и уровнем специфических IgG к *H.pylori* в слизистой оболочке желудка. При этом IL-4 также оказывает модулирующее действие на апоптоз лимфоцитов крови [10].

Противовоспалительные цитокины, в частности IL-4, принимают участие в ограничении воспалительного ответа, подавляя секрецию провоспалительных цитокинов и регулируя, таким образом, тяжесть повреждения тканей. Понижение уровня IL-4 свидетельствует о длительном хроническом воспалении [77].

1.4.5 IFN- γ

Интерферон- γ представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 20-25 кДа, который состоит из 147 аминокислотных остатков и известен как иммунный интерферон. Известно два типа интерферона - гамма - гамма 1a и гамма 2a, различающихся последовательностью аминокислот в своей цепочке в 1 и 139 положении. Интерферон- γ обладает ярко выраженной иммуномодулирующей активностью, так как усиливает экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости I и II класса; ИФН- γ является одним из факторов дифференцировки В-клеток. Он может либо усиливать, либо подавлять В-клеточный иммунный ответ, на поздних стадиях ИФН- γ усиливает секрецию иммуноглобулинов; также ИФН- γ активизирует макрофаги, усиливает активность натуральных киллеров; снижает экспрессию субпопуляции В-клеток, моноцитов и эозинофилов, индуцированных IL-4; является индуктором апоптоза дифференцированных В-клеток, дающих начало аутореактивным клонам, но в то же время стимулирует рост и дифференцировку В-клеток; а также уменьшает продукцию IgE; интерферон- γ подавляет экспрессию CD23-антигена. Отменяет супрессивный эффект интерлейкина-4 на интерлейкин-2-зависимую пролиферацию и генерацию лимфокин активированных киллеров. Активирует продукцию белков острой фазы воспаления [73].

Гамма — интерферон регулирует иммунный ответ, и выраженность воспалительных реакций. Он является важнейшим провоспалительным цитокином, продуцентами которого в организме человека являются естественные киллерные клетки, CD4 Th1 клетки и CD8 цитотоксические супрессорные клетки. Рецепторы к интерферону гамма имеют макрофаги, нейтрофилы, естественные киллерные клетки, цитотоксические Т-лимфоциты. Интерферон- γ активизирует эффекторные функции этих клеток, в частности их микробоцидность, цитотоксичность, продукцию цитокинов, супероксидных и

нитрооксидных радикалов, тем самым вызывая гибель внутриклеточных паразитов [73].

Интерферон- γ обладает самостоятельным антивирусным и противоопухолевым эффектом. Его образование не индуцируется вирусами. Интерферон- γ оказывает многочисленные иммунорегуляторные эффекты и служит наиболее сильным активатором макрофагов и индуктором экспрессии молекул МНС класса II клетками тканей. Осуществляя эти и другие функции, ИФН- γ действует синергично с факторами некроза опухолей ФНО-альфа и ФНО-бета. Гамма - интерфероны являются цитокинами с множественным действием на разные клетки иммунной системы, в частности, участвуют в регуляции соотношения гуморального и клеточного иммунного ответа [78].

При секреции ИФН- γ влияет как на саму секретирующую его клетку, так и на расположенные рядом клетки через γ -интерфероновые рецепторы. Взаимодействие ИФН- γ с рецепторами клеточной поверхности является первым необходимым этапом начала его действия. ИФН- γ может вызывать как защитные, так и патологические эффекты [66].

ИФН- γ является активатором макрофагов и усиливает их противоопухолевую активность, также он усиливает противоопухолевое действие цитотоксических лимфоцитов. Совместно с лимфотоксином, образуемым как CD4, так и CD8 лимфоцитами, ИФН- γ подавляет рост опухолевых клеток. Воздействуя на ядро клетки-мишени, ИФН- γ индуцирует на ней экспрессию рецепторов лимфотоксина [66].

Очень важным действием ИФН- γ является усиление экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости I и II классов на клеточной поверхности. Если усиление экспрессии молекул МНС I и II классов происходит на патологически изменённой клетке, она становится более доступной мишенью для последующего разрушения. Если это действие направлено на антигенпредставляющую клетку, то усиливается формирование иммунного ответа [66].

1.5 Общая характеристика пепсиногенов I и II

Пепсиноген — профермент, зимоген пепсина, отличающийся от пепсина наличием 44 дополнительных аминокислот. Пепсиноген продуцируется главными клетками фундальных желёз желудка и активируется соляной кислотой, которую выделяют париетальные клетки желудка. Уровень секреции пепсиногенов в просвет желудка определяется массой главных клеток желудка и контролируется гормоном гастрином. Главные клетки слизистой оболочки желудка также являются своеобразным хранилищем, где пепсиногены накапливаются до начала процесса пищеварения [79, 80].

Идентифицированы семь изоформ пепсиногена человека: пять составляют группу пепсиногена I (обозначаются как пепсиноген 1 - пепсиноген 5) два составляют группу пепсиногена II (пепсиноген 6 - пепсиноген 7) и найдены в других железах. Эти изоформы различаются молекулярным весом, электрофоретической подвижностью. На сегодняшний день нет доказательств,

что одна изоформа пепсиногена является проформой конкретного изопепсина и наоборот [81, 82].

Существует две основных формы пепсиногена человека: пепсиноген I и пепсиноген II, имеющие разную молекулярную структуру и разные иммунологические свойства [83].

В небольших концентрациях пепсиногены попадают в кровь. Исследование уровня пепсиногенов в сыворотке крови используют для оценки состояния слизистой оболочки желудка [84].

1.5.1 Пепсиноген I

Пепсиноген I (PGI) является предшественником фермента пепсина (необходимого для переваривания белка) и синтезируется главными и слизистыми шейными клетками слизистой оболочки тела и дна желудка (так называемые кислотопродуцирующие железы слизистой оболочки желудка). Для пепсиногена I оптимальна высокая кислотность (pH=1,5-2,0). Основная часть PGI секретируется в полость желудка, в то время как небольшое количество может быть обнаружено в крови. Уровень S/P-PGI достоверно коррелирует с количеством главных клеток в слизистой тела желудка. Соответственно, потеря главных клеток приводит к линейному снижению S/P-PGI. С другой стороны, потеря главных клеток является результатом атрофического гастрита. В норме уровень PGI в желудочном соке составляет 30–120 мкг/л [82, 84, 85, 86].

Объём пепсиногена I коррелирован с количеством главных клеток, поэтому уровень пепсиногена I в сыворотке крови менее 25 мкг/л свидетельствует об атрофических изменениях в теле желудка и позволяет предположить наличие атрофического гастрита. Высокий уровень пепсиногена I наблюдается не только при повышенной секреции желудочного сока и сопутствующего увеличению массы стенки желудка, но и при синдроме Золлингера-Эллисона, язвы двенадцатиперстной кишки (30-50% больных), остром гастрите [86].

Определение концентрации ПГ1 для ранней диагностики атрофического гастрита получило распространение во многих развитых странах, а в Японии оно включено в обязательную методику для скринингового исследования. Результаты определения ПГ1 при скрининге позволяют выделить лиц с высоким риском развития рака желудка. Нормативные значения уровня ПГ1 в Западной и Восточной популяциях отличаются. В европейских странах критерием атрофии считается концентрация сывороточного ПГ1 ниже 25 мкг/л, в Японии – ниже 70 мкг/л [85].

1.5.2 Пепсиноген II

Пепсиноген II – это предшественник фермента пепсина, участвующего в переваривании белка в желудочно-кишечном тракте. Он является лабораторным индикатором H. Pylori-ассоциированного гастрита, язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, а также некоторых опухолей. Данный

профермент вырабатывается главными и шеечными муцинообразующими клетками слизистой оболочки желудка, а так же пилорическими железами антральной части желудка и Бруннеровыми железами проксимальной части двенадцатиперстной кишки. Для пепсиногена II характерна более низкая кислотность (рН=4,5), чем для пепсиногена I. Пепсиноген II составляет всего 30 % от общего содержания пепсиногенов в слизистой оболочке желудка, при этом его вклад в общую протеолитическую активность почти эквивалентен пепсиногену I [83, 84, 86, 87].

В норме сывороточный уровень ПГ2 составляет 3-10 мкг/л. Его повышение является маркером воспаления в желудке любой этиологии [85].

1.5.3 Соотношение пепсиногенов I и II

Пепсиноген I и пепсиноген II обнаруживается в сыворотке крови, но с мочой в норме выделяется только пепсиноген I. Установлено, что объёмы и соотношение пепсиногенов I и II в сыворотке крови коррелировано с состоянием слизистой оболочки и может быть использовано при диагностике некоторых заболеваний желудочно-кишечного тракта [81].

Соотношение PGI/PGII линейно уменьшается с увеличением выраженности атрофического гастрита в области тела желудка. Это соотношение составляет менее 3 при выраженном атрофическом гастрите (тяжелом или умеренном) тела желудка. Показано, что риск развития рака желудка повышается при низком соотношении PGI/PGII. Определение уровня пепсиногена II используется в качестве дополнительного диагностического критерия при диагностике атрофического гастрита с поражением тела желудка, который является фактором риска по развитию рака желудка. Определение пепсиногена II используется вместе с определением пепсиногена I для расчета их соотношения PGI/PGII. Соотношение ПГ1/ПГ2 в норме 3–20, по мере увеличения тяжести атрофического гастрита с поражением тела желудка это соотношение уменьшается. Концентрация пепсиногенов в сыворотке крови коррелирует с тяжестью поражения слизистой оболочки желудка, которая была подтверждена морфологически. Ценную информацию о состоянии СОЖ дает определение соотношения концентраций ПГ1/ПГ2. Установлено, что у здоровых жителей стран Западной Европы этот показатель превышает 3. Значение менее 3 служит дополнительным серологическим критерием атрофического гастрита [85, 86, 87].

После эрадикации *H. pylori* в группе пациентов с атрофическим гастритом, в динамике наблюдений через 1,5 года отмечали достоверное повышение соотношения пепсиногенов I/II (при разнонаправленных изменениях уровней пепсиногенов I и II), на фоне стабилизации процессов атрофии гистологически [81].

В последние годы все большую популярность получает метод исследования содержания в сыворотке крови пепсиногена I, пепсиногена II и гастрин-17 в качестве маркеров атрофии СОЖ фундального и антрального отделов желудка. Этот малоинвазивный метод позволил выделить несколько

разновидностей атрофического гастрита в теле желудка и в антральном отделе. Пепсиноген I и II синтезируются и секретируются главными клетками желудка. После попадания в просвет желудка они превращаются в протеолитический фермент пепсин. Неопластическая трансформация вызывает глубокие изменения в структуре и функции слизистой оболочки желудка. Исследования последних лет показали, что пепсин, как основной фермент, синтезируемый эпителием желудка, характеризует функциональное состояние слизистой оболочки желудка, и его синтез страдает при патологических изменениях в желудке. Соответственно разной степени выраженности и распространенности атрофии слизистой оболочки желудка уровень пепсина в желудке колеблется от малозаметных отклонений от нормы до выраженного снижения. При этом более выраженная степень атрофии характеризуется более существенным снижением уровня пепсина. Таким образом, уровень пепсина может служить ценным неморфологическим критерием, который может быть использован для диагностики предраковых изменений желудка на самых ранних стадиях. Снижение уровня пепсиногена I коррелирует со снижением количества главных клеток при атрофии слизистой желудка. Измерение уровней пепсиногена I и пепсиногена II, а также их соотношения в сыворотке крови используется в качестве скринингового метода для выявления атрофического гастрита и рака желудка [62, 88].

1.6 Иммуноферментный анализ

Иммуноферментный анализ (ИФА) - вид иммунохимического анализа, основанный на иммунологической реакции антигена с соответствующим антителом с образованием комплекса антиген-антитело, для выявления которого в качестве метки (маркера) антигена, антитела или обоих компонентов этой реакции используют их конъюгаты с ферментами.

Метод ИФА является одним из наиболее активно развивающихся направлений химической энзимологии, что обусловлено уникальной специфичностью иммунохимического анализа в сочетании с высокой чувствительностью детекции ферментной метки. Высокая стабильность реагентов, несложность способов регистрации и многие другие достоинства метода ИФА способствовали его широкому внедрению в различные области медицины, биологической промышленности, а также в многочисленные научные исследования [89].

Существует множество модификаций метода ИФА, но наиболее известным и используемым в практике является гетерогенный ИФА, где антиген или антисыворотка фиксируются на твердой фазе (например, полистирольные планшеты), также как и образовавшиеся иммунные комплексы, а не прореагировавшие компоненты реакции удаляются многократным отмыванием [89].

Среди гетерогенных методов различают конкурентный и неконкурентный («сэндвич»).

«Сэндвич»-метод:

1. В лунку вносится исследуемый биологический материал, чаще всего сыворотка крови больного. Исследуемые антитела (Аб) связываются с антигеном, сорбированным на планшете.
2. Несвязавшиеся белки удаляют отмыванием.
3. В лунку вносят Аб (лиганд) с заранее прикрепленным к ним ферментом, например пероксидазой, способные связаться с Аб человека, закрепившимися на агенте. Это так называемый конъюгат. Если в ячейке имеются образовавшиеся на первой стадии процесса иммунные комплексы, то лиганд соединяется с тестируемыми антителами.
4. Несвязавшийся конъюгат остается в жидкой фазе и удаляется отмыванием.
5. В лунку добавляется хромоген - бесцветный субстрат, который под влиянием связанного с лигандом фермента превращается в окрашенный продукт реакции.
6. Количество тестируемых антител определяют по содержанию окрашенного продукта реакции путем измерения оптической плотности (ОП) [90].

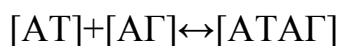
ОП калибраторов с известным содержанием белка (маркера) позволяет построить калибровочную кривую, используемую в дальнейшем для определения концентрации необходимого белка в исследуемых пробах пациентов.

Иммуноферментный анализ по сравнению с другими методами детекции антигенов и антител обладает следующими преимуществами [90]:

- возможностью использовать минимальные объемы исследуемого материала;
- стабильностью при хранении всех ингредиентов, необходимых для проведения ИФА (до года и более);
- простотой проведения реакции;
- наличием как инструментального (в качественном и количественном варианте), так и визуального учета;
- возможностью автоматизации всех этапов реакции;
- относительно низкой стоимостью диагностических наборов;
- высокой чувствительностью, позволяющей выявлять концентрации до 0,05 нг/мл. Такая чувствительность метода определяется способностью одной молекулы фермента катализировать превращение большого числа молекул субстрата.

Вышеперечисленные преимущества определили широкое применение ИФА во всех областях медицины, в том числе и при диагностике, профилактике и изучении вирусных гепатитов. Теоретически ИФА основывается на данных современной иммунохимии и химической энзимологии, знании физико-химических закономерностей реакции антиген-антитело, а также на главных принципах аналитической химии. Чувствительность ИФА и время его проведения определяется несколькими основными факторами: кинетическими, термодинамическими характеристиками реакции антиген-антитело, соотношением реагентов, активностью фермента и разрешающей способностью методов его детекции. Средняя чувствительность ИФА составляет 10^{-9} - 10^{-12}

моль, но может достигать вплоть до 10^{-21} моль в образце. В общем виде реакция антиген-антитело может быть описана простой схемой:



Разнообразие объектов исследования от низкомолекулярных соединений до вирусов и бактерий, а также необычайно широкий круг задач, связанных с многообразием условий применения ИФА, обуславливают разработку чрезвычайно большого количества вариантов этого метода [91].

Любой вариант ИФА содержит 3 обязательные стадии:

1. стадия узнавания тестируемого соединения специфическим к нему антителом, что ведет к образованию иммунного комплекса;
2. стадия формирования связи конъюгата с иммунным комплексом или со свободными местами связывания;
3. стадия превращения ферментной метки в регистрируемый сигнал [91].

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано 100 больных с хроническим гастритом, из них у 75 пациентов (37 мужчин и 38 женщин) в возрасте от 20 до 70 лет (средний возраст составил $44,7 \pm 0,9$ лет) выявлен поверхностный хронический гастрит, у 25 пациентов (14 мужчин и 11 женщин) в возрасте от 20 до 70 лет (средний возраст составил $45,1 \pm 1,9$ лет) выявлен хронический атрофический гастрит. Контрольную группу составили 100 практически здоровых добровольцев (55 мужчин и 45 женщин) в возрасте от 19 до 67 лет (средний возраст $46,8 \pm 1,3$ лет).

Отбор больных и набор клинического материала производился методом случайной выборки по мере поступления в гастроэнтерологическое отделение НИИ медицинских проблем Севера и КГБУЗ в 2013-2015 годах.

Исследование проводилось с разрешения этического комитета ФГБНУ «НИИ медицинских проблем Севера» (ФИО директора – д.м.н., профессор Каспаров Э.В.). В работе с обследованными пациентами соблюдались этические принципы, предъявляемые ст. 24 Конституции РФ и Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциацией [19]. Каждый участник подписывал форму информированного согласия на обследование, подтверждающее их добровольное участие в исследовании.

Диагноз хронический атрофический гастрит устанавливался при фиброгастродуоденоскопии и морфологическом исследовании слизистой оболочки большой и малой кривизны тела желудка по критериям модифицированной Сиднейской классификации. Во время эндоскопического исследования осуществлялась прицельная биопсия из антрального отдела, большой и малой кривизны тела желудка. Для качественной гистологической оценки срезы окрашивали гематоксилином и эозином [92].

Серологическая диагностика атрофического гастрита тела желудка осуществлялась с помощью определения пепсиногенов в сыворотке крови. Лабораторные анализы проводились в клиничко-диагностической лаборатории ФГБНУ «НИИ медицинских проблем Севера». В сыворотке крови определялись пепсиноген-1, пепсиноген-2 и антитела к *Helicobacter pylori* с помощью иммуноферментного анализа на ИФА-анализаторе Stat Fax 303+, используя тест-систему «Гастропанель» («Биохит», Финляндия). Диагноз выраженного атрофического гастрита слизистой оболочки тела желудка (ХАГ) ставили на основании уровня пепсиногена-1 менее 25 мкг/л и значения отношения пепсиноген-1/пепсиноген-2 меньше 3. Показатели концентрации пепсиногена-1 от 25 до 50 мкг/л со значением отношения пепсиноген-1/пепсиноген-2 больше 3 – относили к слабо и средне выраженной атрофии тела желудка (ХГ). К здоровым лицам относили пациентов с отсутствием жалоб со стороны верхних отделов желудочно-кишечного тракта, отсутствием гастроэнтерологического анамнеза, уровнем пепсиногена-1 более 50 мкг/л в сыворотке крови и соотношением пепсиноген-1/пепсиноген-2 больше 3. У всех обследованных пациентов устанавливали наличие *H.pylori* серологическим методом с помощью определения титра специфических антител к антигену *cagA H.pylori*. Титры антител к *H. pylori* от 30 EIU и более считали

положительным результатом, менее 30 EIU - отрицательным результатом определения *H. pylori*.

Материалом для исследования являлась кровь (10 мл) из локтевой вены, которая забиралась утром натощак, в вакутейнеры с добавлением раствора гепарина натрия (5 ЕД/ мл). Оценка иммунитета изучалась при поступлении больных в стационар до начала патогенетической терапии.

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

Концентрация IL-2, IL-4, IL-8, TNF- α и IFN- γ в плазме крови у больных хроническим гастритом и хроническим атрофическим гастритом определялась с помощью метода иммуноферментного анализа (набор ЗАО «Вектор-Бест»). Измерение оптической плотности проводилось на стриповом иммуноферментном анализаторе Stat Fax 303+.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft, USA). Анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения проводился с использованием критерия Шапиро– Уилка. При описании выборки вычислялись медианы (Me) и интерквартильный размах процентилей (C_{25} - C_{75}). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по критерию Манна – Уитни ($p < 0.05$).

2.1 Метод ИФА для цитокинов: IL-2, IL-4, IL-8, TNF- α и IFN- γ

2.1.1 Оборудование и материалы

Для работы с набором необходимо следующее дополнительное оборудование и материалы:

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм; или при длине волны 450 нм;
- Шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при 700 об/мин;
- Устройство для промывки планшет;
- Дозаторы полуавтоматические одноканальные и многоканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 1000 мкл;
- Флаконы стеклянные вместимостью 10-15 мл;
- Цилиндр мерный вместимостью 500мл;
- Колба вместимостью 1000мл;
- Вода дистиллированная;
- Фильтровальная бумага
- Перчатки резиновые или пластиковые.

Проведение измерений:

Измерить оптическую плотность с помощью спектрофотометра в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620-655 нм. Допускается измерение только с фильтром 450 нм.

Измерение проводить через 2-3 мин после остановки реакции. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 10 мин.

2.1.2 Принцип метода

Метод определения основан на трехстадийном «сэндвич» - варианте твердофазного иммуноферментного анализа. Специфическими реагентами набора являются моно- и поликлональные антитела к IL-2, IL-4, IL-8, TNF- α и IFN- γ человека, сорбированные на поверхности лунок разборного полистирольного планшета.

В лунках планшета при добавлении исследуемого образца во время первой инкубации происходит связывание имеющихся в образце IL-2, IL-4, IL-8, TNF- α и IFN- γ с моноклональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. Также на первой стадии анализа инкубируют контрольные образцы в лунках с иммобилизованными антителами, для дальнейшего представления результатов.

Связавшийся IL-2, IL-4, IL-8, TNF- α и IFN- γ взаимодействует во время второй инкубации с конъюгатом №1 (антитела к IL-2, IL-4, IL-8, TNF- α и IFN- γ человека с биотином).

На третьей стадии биотин в составе конъюгата №1 взаимодействует при инкубации со стрептавидином, конъюгированным с пероксидазой хрена (конъюгат №2).

Количество связавшегося конъюгата №2 определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы хрена – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Во время последней инкубации с раствором тетраметилбензидина, происходит окрашивание исследуемого раствора в лунках в голубой цвет. Затем добавляется стоп-реагент (серная кислота), останавливается ферментативная реакция и происходит смена окраски с голубого на желтый цвет. Интенсивность желтого окрашивания прямо пропорциональна концентрации IL-2, IL-4, IL-8, TNF- α и IFN- γ человека в анализируемых пробах.

После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация IL-2, IL-4, IL-8, TNF- α и IFN- γ в анализируемых образцах.

2.2 Статистический метод обработки данных

По результатам исследования на персональном компьютере в пакете электронных таблиц MS Excel 2010 была сформирована база данных. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft Inc., США, 2008) и Microsoft Excel, 2007 (Microsoft, США) Для всех данных, определяли медиану

(Me) и перцентили (C_{25} - C_{75}). [93]. Оценку достоверности различий средних осуществляли с использованием t- критерия Стьюдента. Обработка полученных данных включала подсчет непараметрических данных: Качественные переменные были описаны абсолютными значениями и в виде процентных долей. Статистическую значимость различий определяли с использованием рангового критерия Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным $p < 0,05$.

Для определения корреляционных связей использовали метод Спирмена, так как, по крайней мере, одно из распределений анализируемых количественных признаков не является нормальным.

При значении коэффициента корреляции $|r| \geq 0,75$ связь между признаками оценивалась как сильная, при коэффициенте $0,25 < |r| < 0,75$ – зависимость средней силы, при $|r| \leq 0,25$ – слабая степень корреляции. При сравнении признаков, характеризующих частоту, использовался точный критерий Фишера [93].

Для определения наиболее значимых показателей гуморального, клеточного и неспецифического звена иммунитета, а также для определения отличий для цитокинов, и оценки равномерности исследуемых показателей в контрольной группе и больных людей нами применен дискриминантный анализ. Дискриминантный анализ проводился с использованием пошагового метода (F-критерий Фишера). Анализировали группы, сформированные классификатором при дискриминантном анализе, по непараметрическим показателям. Для интерпретации результатов дискриминантного анализа использовали Wilk's Lambda — лямбда Уилкса (статистика Уилкса), Partial Lambda — частная лямбда, F-remove — F-критерий и Toler. — толерантность.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из текста ВКР изъяты результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ХАГ – хронический атрофический гастрит
ХГ – хронический гастрит
СОЖ – слизистая оболочка желудка
РЖ – рак желудка
H.pylori – Helicobacter pylori
ДГР – дуоденогастральный рефлюкс
КМ – кишечная метаплазия
ДПК – двенадцатиперстная кишка
ЖКТ – желудочно – кишечный тракт
ХГ – хронический гастрит
ИФА – иммуноферментный анализ
ОП – оптическая плотность
АТ, Ab – антитело
АГ – антиген
ПГ 1, PG I – пепсиноген 1
ПГ 2, PG II – пепсиноген 2
OLGA – Operative Link for Gastritis Assessment
Ig – иммуноглобулины
IL - интерлейкины
IL-2 – интерлейкин 2
IL-4 – интерлейкин 4
IL-8 – интерлейкин 8
TNF- α , ФНО- α – фактор некроза опухоли- α
IFN- γ , ИФН- γ – интерферон- γ
КСФ – колониестимулирующие факторы
TGF- β – фактор роста- β
МНС – главный комплекс гистосовместимости
МАРК – mitogen-activated protein kinase - митоген-активируемая протеинкиназа
Th1 – Т-хелперы первого типа
Th2 – Т-хелперы второго типа
ЕIU – иммуноферментные единицы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Костюкевич, О.И. Атрофический гастрит: что мы понимаем под этим состоянием. Современные подходы к диагностике и лечению / О.И. Костюкевич // Русский медицинский журнал, ИД РМЖ. – Москва, 2010. – №28. – С. 1717-1722.
2. Correa, P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process. First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention // *Cancer Res.* – 1992. – Vol. 52. – P. 6735–6742.
3. Tanno, T. Development and maintenance of cancer stem cells under chronic inflammation / T. Tanno, W. Matsui // *J. Nihon. Med. Sch.* – 2011. – Vol. 78. – P. 138-145.
4. Multhoff, G. Chronic inflammation in cancer development / G. Multhoff, M. Molls, J. Radons // *Front. Immunol.* – 2011. – Vol. 2. – P. – 98.
5. Соснина, А.В. Цитокинпродуцирующий потенциал клеток крови и цитокины сыворотки больных хроническим атрофическим гастритом / А.В. Соснина [и др.] // *Медицинская иммунология.* – Новосибирск, 2013. – Т. 15, № 3. – С. 247-254.
6. Агеева, Е.С. Роль TNF- α в развитии *Helicobacter pylori*-ассоциированного хронического атрофического гастрита / Е.С. Агеева, О.В. Штыгашева // *Сибирское медицинское обозрение.* – Абакан, 2013. – №3. – С. 30-32.
7. Буторин, Н.Н. Распространенность и факторы риска атрофического гастрита / Н.Н. Буторин, А.В. Васютин, О.С. Амельчугова, М.И. Новицкая // Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, г. Абакан "Научно исследовательский институт медицинских проблем Севера" Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Красноярск, 2012. – С. 149-152.
8. Матвеева, Л.В. Состояние секреторной и регенераторной функций желудка при канцерогенезе / Л.В. Матвеева, Л.М. Мосина // *Сибирский онкологический журнал.* – Саранск, 2012. – № 6 (54). – С 54-56.
9. Вернигородский, С.В. Особенности структурных изменений слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите у лиц разных возрастных групп / С.В. Вернигородский // *Клиническая и экспериментальная морфология.* – 2014. – С. 4-7.
10. Агеева, Е.С. Роль IL-2 и IL-4 в регуляции апоптоза лимфоцитов крови у пациентов с инфекцией *Helicobacter pylori* / Е.С. Агеева [и др.] // *Сибирский медицинский журнал.* – Абакан, 2013. – № 2. – С.64-66.
11. Агеева, Е.С. Эффекты цитокинов в патогенезе *Helicobacter pylori*-ассоциированных хронического гастрита и язвенной болезни / Е.С. Агеева // *Сибирский медицинский журнал.* - Абакан, 2014. – № 2. – С. 5-8.
12. Аруин, Л.И. Хронический гастрит / Л.И. Аруин // 1993. – 362 с.
13. Цуканов, В.В. Распространенность атрофического гастрита тела желудка у населения г. Красноярска старше 45 лет / В.В. Цуканов, О.В.

- Третьякова, О.С. Амельчугова и др. // Рос.журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.- 2012.- №4.- С. 27-31.
14. Прихода, И.В. Иммунологическая реактивность при хроническом гастрите / И.В. Прихода, М.М. Терещенко // Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко. – 2009. – С. 2-5.
 15. Губергриц, Н.Б. Хронический гастрит: насколько это просто? / Н.Б. Губергриц // Частная гастроэнтерология. – 2010. - № 3(53). – С. 58-68.
 16. Correa, P. The gastric precancerous cascade / P. Correa // Dig. Dis. – 2012. – Vol. 13(1). – P. 2-9.
 17. Graham, D.Y. Eradication of gastric cancer and more efficient gastric cancer surveillance in Japan: two peas in a pod / D.Y. Graham, M. Asaka // Gastroenterol. – 2010. – Vol. 45. - № 1. – P. 1-8.
 18. Кононов, А.В. Морфогенез атрофии слизистой оболочки желудка как основа фенотипа хронического гастрита / А.В. Кононов, С.И. Мозговой, М.В. Маркелова, А.Г. Шиманская // Архив патологии. – 2011. - № 3. – С. 26-31.
 19. Dixon, M.F Classification and grading of gastritis. The updated Sydney system. International workshop on the histopathology of gastritis, Houston 1994 / M.F. Dixon, R.M. Genta, J.H. Yardley, et al. // Am J Surg Pathol. – 1996. – Vol. 20. – P. 1161–1181.
 20. Rugge, M. Human Pathology / M. Rugge, R.M. Genta // 2005. – P. 33-36.
 21. Звягинцева, Т.Д. Хронический гастрит / Т.Д. Звягинцева, Я.К. Гаманенко // Харьковская медицинская академия последипломного образования. – 2012. - № 3-4(2). – С. 28-35.
 22. Маев, И.В. Принципы диагностики и рациональной фармакотерапии хронического гастрита / И.В. Маев, Н.Н. Голубев // Болезни органов пищеварения. – 2010. - № 28. – С. 1702-1706.
 23. Саранчина, Ю.В. Оценка функционального состояния некоторых показателей иммунного ответа в патогенезе *Helicobacter pylori*-ассоциированного хронического гастрита: дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: 14.03.03 / Ю. В. Саранчина // Абакан, 2015. – 159 с.
 24. Хомерики, С. Г. Роль кокковых форм *Helicobacter pylori* в патогенетических механизмах и персистенции хеликобактерной инфекции / С. Г. Хомерики, И. А. Морозов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2001. - № 11 (2). - Прил. 13. – С. 99– 102.
 25. Шкитин, В. А. Роль *Helicobacter pylori* в патологии человека / В. А. Шкитин // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2002. – Т.4. - № 2. – С.128-145.
 26. Ющук, Н. Д. Иммунный ответ при инфекции, вызванной *Helicobacter pylori* / Н. Д. Ющук, И. В. Маев, К. Г. Гуревич // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2003. - № 6. -С. 86—91.

27. Тец, В. В. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии иммунологии / В. В. Тец // М.: Медицина, 2002. - 352 с.
28. Маев, И.В. Что мы знаем о хроническом гастрите / И.В. Маев, А.А. Самсонов, Н.Г. Андреев, С.А. Кочетов // Фарматека. – 2011. - № 10. – С. 10-16.
29. Исаков, В. А. Диагностика и лечение инфекции, вызванной *Helicobacter pylori*: IV Маастрихтское соглашение / В.А. Исаков // Новые рекомендации по диагностике и лечению инфекции *H. Pylori* — Маастрихт IV (Флоренция). Best Clinical Practice. Русское издание, 2012. – С. 4-23.
30. Непомнящих, Г.И. Структурные изменения клеточных популяций желудка при хроническом гастрите и хроническом гепатите в условиях персистенции *Helicobacter pylori* / Г.И. Непомнящих и др. // Медицинские науки. Фундаментальные исследования. – 2015. - № 1. – С. 1878-1883.
31. Исаков, В. А. Молекулярно-генетические основы патогенности *Helicobacter pylori* / В. А. Исаков // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2002. - № (12) 6. – С. 82 - 85.
32. Кудрявцева, Л. В. *Helicobacter pylori*- инфекция: современные аспекты диагностики и терапии (пособие для врачей) / Л. В. Кудрявцева, П. Л. Щербаков, И. О. Иваников [и др.]. // Москва, 2004. - 41 с.
33. Сарсенбаева, А. С. Методы диагностики инфекции *Helicobacter pylori*: учебное пособие / А. С. Сарсенбаева, Г. Л. Игнатова, С. В. Воротникова // Челябинск, 2005. - 27с.
34. Ющук, Н. И. Инфекция *Helicobacter pylori* / Н. И. Ющук, В. Т. Ивашкин, И. В. Маев // Мед. Газета. - 2006. — № 40. — С. 8-9.
35. Дябкин, Е. В. Состояние иммунной системы при патологии печени / Е. В. Дябкин, С. С. Дунаевская, Ю. С. Винник // Новости хирургии. – 2011. – Т. 19. - №1. - С. 112 - 116.
36. Домарадский, И. В. Вопросы патогенности *Helicobacter pylori* / И. В. Домарадский // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2001. - №2. - С.113-115.
37. Фрейдлин, И. С. Иммунная система и ее дефекты: Руководство для врачей / И. С. Фрейдлин // г. Санкт-Петербург, 1998. – 113 с.
38. Мирутко, Д. Д. *Helicobacter pylori*: патогенность, иммунный ответ организма и перспективы иммуномодулирующей терапии / Д. Д. Мирутко, А. В. Сапотницкий // Медицинский журнал. - 2005. — № 3. — С. 90-93.
39. Осадчук, М.М. Хеликобактериоз. Актуальные и нерешенные проблемы патогенеза и лечения / М.М. Осадчук, В.И. Купаев, А.М. Осадчук // Практическая медицина. – 2012. - № 1(56). – С. 16-21.
40. Агеева, Е. С. Молекулярно-генетические факторы, влияющие на исход инфицирования *Helicobacter pylori* у жителей Республики Хакасия / Е. С.

- Агеева, О. В. Штыгашева, Н. В. Рязанцева и др. // Российский журнал Гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2010. - №4. - С. 16-21.
41. Нижевич, А. А. Значение анти- *cagA* серологического иммунного ответа у детей с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с НР / А. А. Нижевич, Е. С. Кучина, Э. Н. Ахмадеева // Фундаментальные исследования. – 2012. - № 4. – С. 212-215.
42. Сачек, М. Г. Эрадикационная терапия в профилактике и лечении анастомозита в хирургии язвенной болезни / М. Г. Сачек, С. Н. Ермашкевич // Новости хирургии. - 2010. – Т. 18. - №3 - С. 32-46.
43. Цуканов, В. В. Эпидемиология язвенной болезни (монография) / В. В. Цуканов, О. В. Штыгашева, С. В. Баркалов // Красноярск, 2004. - 198 с.
44. Цуканов, В. В. Распространенность *CagA*-позитивных штаммов *Helicobacter pylori* и язвенной болезни в популяции Восточной Сибири / В. В. Цуканов, С. В. Баркалов, Ю. Л. Тонких [и др.] // Терапевтический архив. - 2007. - № 79. (2). – С. 15–18.
45. Штыгашева, О. В. Гены и болезни хакасов / О. В. Штыгашева, Е. С. Агеева, В. Н. Харьков [и др.] // Красноярск, 2010. - 296 с.
46. Correa P. The biological model of gastric carcinogenesis // IARC Sci. Publ. – 2004. – Vol. 157. – P. 301–310.
47. *Helicobacter pylori* infection and early gastric cancer / K. Takeuchi, Y. Ohno, Y. Tsuzuki [et al.] // J. Clin. Gastroenterol. – 2003. – Vol. 36, N 4. – P. 321–324.
48. Павлович, И.М. Влияние *Helicobacter pylori* на морфологическое состояние слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите / И.М. Павлович, А.В. Гордиенко, С.С. Бацков, Д.В. Лавренчук // Медико - биологические и социально - психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. - 2013. - № 2. – С. 32-35.
49. Спасова, Т.Е. Особенности течения язвенной болезни желудка на фоне хронического атрофического гастрита (по данным гастроэнтерологического отделения РКБ им. Семашко) / Т.Е. Спасова // Вестник Бурятского государственного университета. - Улан – Удэ, 2010. - №12. - С. 179-182.
50. Пасечников, В.Д. Процессы клеточного обновления при *H. pylori*-ассоциированном хроническом атрофическом гастрите / В.Д. Пасечников, А.В. Балабеков, С.З. Чуков // Клиническая гастроэнтерология. – 2010. – С. 8-12.
51. Степанов, Ю.М. Повышение информативности эндоскопической диагностики предраковых изменений и рака желудка у больных с атрофическим гастритом / Ю.М. Степанов, Е.В. Симонова // Гастроэнтерология. - Днепропетровск, 2013. - №4. - С. 23-33.
52. Veijola, LI Association of autoimmune type atrophic corpus gastritis with *Helicobacter pylori* infection / LI Veijola [et al.] // World J Gastroenterol. - №16(1). – 2010. - P. 83-88.

53. Yanaoka Kimihiko, Eradication of *Helicobacter pylori* prevents cancer development in subjects with mild gastric atrophy identified by serum pepsinogen levels / Kimihiko Yanaoka, Masashi Oka, Hiroshi Ohata, Noriko Yoshimura // International journal of cancer. – 2009. – P. 2697-2703.
54. Волкова, Н.Н. Факторы риска развития хронического атрофического гастрита / Н.Н. Волкова // Русский медицинский журнал. - Москва, 2013. - №31. - С. 1617-1620.
55. Пасечников, В.Д. Состояние иммунного ответа у пациентов с H.Pylori-ассоциированным хроническим атрофическим гастритом и ранним раком желудка в зависимости от серотипа возбудителя / В.Д. Пасечников, Л.Р. Джанибекова, С.З. Чуков // Практическая медицина. - Казань, 2012. - №3 (58). - С. 56-58.
56. Субботин, А.М. Современные представления о диагностике и патогенезе атрофического гастрита / А.М. Субботин, С.А. Блащенко // Поволжский онкологический вестник. – 2010. – С. 66-73.
57. Вернигородский, С.В. Полная кишечная метаплазия слизистой оболочки желудка как предраковое состояние: проблемы патоморфологической диагностики / С.В. Вернигородский // Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова. – 2010. – С. 1-8.
58. Вернигородский С.В. Сравнительная оценка и анализ патоморфологической и эндоскопической картины слизистой оболочки желудка при кишечной метаплазии / С.В. Вернигородский, Л.В. Дегтярева, К.В. Баранников, М.В. Мнихович // «Наука молодых» (Eruditio Juvenium). – 2014. – С. 8-18.
59. Балабеков, А.В. Пролиферация и апоптоз при H.Pylori-ассоциированном хроническом атрофическом гастрите с метаплазией эпителия / А.В. Балабеков, В.Д. Пасечников, С.З. Чуков // Кубанский научный медицинский вестник. - Краснодар, 2009. - №6. - С. 93-97.
60. Laszlo Szabo Imre, Diagnosis of Gastritis – Review from early pathological evaluation to present day management / Imre Laszlo Szabo, Kata Cseko, Jozsef Czimmer, Gyula Mozsik // Current Topics in Gastritis. – 2012. – P. 3-19.
61. Бектаева, Р.Р. Скрининг и профилактика предрака и раннего рака желудка / Р.Р. Бектаева В.В. Бенберин А.С. Лебедев // Вестник НЦ БЖД, Научный центр безопасности жизнедеятельности. - Казань, 2014. - №2 (20). - С. 114-116.
62. Павлович, И.М. Диагностическая значимость показателей кислотообразующей и пепсинообразующей функции желудка в выявлении предопухолевого потенциала у больных с хроническим атрофическим гастритом / И.М. Павлович, А.В. Гордиенко, С.С. Бацков, Г.А. Альпер // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. - Санкт-Петербург, 2012. - №3. - С. 29-32.

63. Соломенцева, Т.А. Хронический гастрит с позиции канцерпревенции. Эволюция представлений / Т.А. Соломенцева // Частная гастроэнтерология. – 2013. - № 4(72). – С. 135-140.
64. Козлов, В.К. Цитокинотерапия: патогенетическая направленность при инфекционных заболеваниях и клиническая эффективность. – СПб.: Альтер Эго / В.К. Козлов // 2010. – 148 с.
65. Матвеева, Л.В. Интерлейкиновый профиль крови в сопоставлении с выраженностью воспалительного, атрофического и язвенного процессов в слизистой оболочке желудка / Л.В. Матвеева, Л.М. Мосина, Е.А. Митина // Медицинские науки. Фундаментальные исследования. – Саранск, 2013. - №7. - С. 133-137.
66. Змушко, Е.И. Клиническая иммунология. Руководство для врачей / Е. И. Змушко, Е. С. Белозеров, Ю. А. Митин // 2001. - С. 77-95.
67. Парахонский, А.П. Паракринная и аутокринная цитокиновая регуляция иммунного ответа / А. П. Парахонский // «Современные наукоемкие технологии». - 2007. - №8. - С. 1-2.
68. Kimmings, A.N. Endotoxin, cytokines, and endotoxin binding proteins in obstructive jaundice and after preoperative biliary drainage / A. N. Kimmings [et al.] // Gut. - 2000. - №46. - P. 725–731.
69. Bodger, K. Gastric mucosal secretion of interleukin-10: relations to histopathology, Helicobacter pylori status, and tumor necrosis factor-alpha secretion. /K. Bodger, J.I. Wyatt, R.V. Heatley // 1997. - Vol. 40. - P. 739 – 744.
70. Hold, G.L. Innate Immune Sensors and Gastrointestinal Bacterial Infections / Hold G.L., Mukhopadhyaya I., Monie T.P. // Clinical and Developmental Immunology. – 2011. – Vol. 2011. – P.1-11.
71. Rudnicka, K. Helicobacter pylori antigens as potential modulators of lymphocytes cytotoxic activity /K. Rudnicka [et al.] // Microbiology and Immunology. – 2012. – Vol. 56. - №1. – P.62-75.
72. Варюшина, Е.А. Провоспалительные цитокины в регуляции процессов воспаления и репарации / Е.А. Варюшина // Иммунология. – Санкт-Петербург, 2012. – С.46-58.
73. Хаитов, Р.М. Иммунология / Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатьева, И.Г. Сидорович // Иммунология: Учебник. — М.: Медицина, 2000. —432 с.
74. Саранчина, Ю.В. Особенности продукции интерлейкина-8 при Helicobacter pylori – ассоциированном атрофическом гастрите / Ю.В. Саранчина, Е.С. Агеева // ФГБОУ ВПО Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова. – Абакан, 2013. – С.44-48.
75. Маркелова, Е.В. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно воспалительных заболеваниях / Е.В. Маркелова, А.В. Костюшко, В.Е. Красников // Тихоокеанский медицинский журнал. — 2008. — № 3. — С. 24-29.
76. Система цитокинов: теоретические и клинические аспекты / под ред. В.А. Козлова. - Новосибирск: Наука, 2004. – 324 с.

77. Ефремова, А.В. Роль гуморальных факторов иммунной системы в развитии хронического гастрита в условиях севера / А.В. Ефремова [и др.] // Клиническая медицина. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – Якутск, 2011. – №3(79). - С.34-37.
78. Штыгашева, О.В. Роль иммунорегуляторных цитокинов в патогенезе хронического гастрита и язвенной болезни, поиск предикторов заболеваний / О.В. Штыгашева, Е.С. Агеева, В.М. Иптышев // Сибирский медицинский журнал. – Абакан, 2011. – № 1. - С. 88-90.
79. Жуков, В.И. Состояние мониторинговых метаболических показателей у больных гастроканцерогенезом и атрофическим хроническим гастритом / В.И. Жуков, Ю.А. Винник, Ю.П. Белевцов, И.М.Васильева // Харьков, 2013. – С. 21-23.
80. Мосина, Л.М. Иммуно-секреторные параллели при хроническом гастрите / Л.М. Мосина, М.А. Стенина, Л.В. Матвеева // Медицинский альманах. – 2013. – № 1 (25). - С. 28-31.
81. Ping Li, Pepsinogen I and II expressions in situ and their correlations with serum pepsinogen levels in gastric cancer and its precancerous disease / Ping Li, Caiyun He, Liping Sun, Nannan Dong // BMC Clinical Pathology. – 2013. – P. 1-10.
82. Kazumasa Miki, Gastric cancer screening by combined assay for serum anti-Helicobacter pylori IgG antibody and serum pepsinogen levels—“ABC method” / Kazumasa Miki // Proc. Jpn. Acad., Ser. B 87. – 2011. – P. 405-414.
83. Решетников, О.В. Риск развития рака желудка в зависимости от серологических маркеров атрофического гастрита: популяционное исследование / О.В. Решетников, Т.Г. Опенко, Г.И. Симонова, С.А. Курилович [и др.] // Вопросы онкологии. – Новосибирск, 2012. – т. 58, №5. - С. 644-648.
84. Xiao-mei Zhang, The value of serum pepsinogen levels for the diagnosis of gastric diseases in Chinese Han people in midsouth China / Xiao-mei Zhang, Jia-xin Li, Gui-ying Zhang, Xin-hua Li // BMC Gastroenterology. – 2014. – P. 3-6.
85. Бордин, Д.С. «Серологическая биопсия» и скрининг рака желудка / Д.С. Бордин, М.Ю. Бяхов, Л.В. Федуленикова // Журнал «Злокачественные опухоли». – 2012. – С. 30-36.
86. Seon-Young Park, Low pepsinogen i level predicts multiple gastric epithelial neoplasias for endoscopic resection / Seon-Young Park, Sung-Ook Lim, Ho-Seok Ki, Chung-Hwan Jun, Chang-Hwan Park [et al.] // Gut and Liver. – 2014. - Vol. 8. - no. 3. – P. 277-281.
87. Xue-Yuan Cao, Serum pepsinogen II is a better diagnostic marker in gastric cancer / Xue-Yuan Cao, Zhi-Fang Jia, Mei-Shan Jin, Dong-Hui Cao [et al] // World Journal of Gastroenterology. – 2012. – P. 7357-7361.

88. Ebule IA, Helicobacter pylori infection and atrophic gastritis / Ebule IA, Longdoh AN, Paloheimo IL // African Health Sciences. - 2013. – №13(1). - P. 112 – 117.
89. Егоров, А. М. Теория и практика иммуноферментного анализа– М.: Высш. шк. / А. М. Егоров, А. П. Осипов, Б. Б. Дзантиев, Е. М. Гаврилова. – 1991. - 288с.
90. Иммуноферментный анализ: Пер. с англ./Под ред. И53 Т. Нго и Г. Ленхоффа — М.: Мир. - 1988. — 446 с.
91. Самуилов, В. Д. Иммуноферментный анализ / В. Д. Самуилов // Соросовский образовательный журнал. -1999. - №12. –С. 9-15.
92. Rugge, M. OLGA staging for gastritis: a tutorial / M. Rugge, P. Correa, F. Di Mario // Dig Liver Dis. — 2008. - Vol. 40 (8). — P. 650-658.
93. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета статистических программ Statistica / О.Ю. Реброва. – Москва : Медиа Сфера, 2006. – 312 с.
94. Хайдуков, С.В. Цитометрический анализ субпопуляций Т-хелперов (Th1, Th2, Treg, Th17, Т-хелперы активированные) / С.В. Хайдуков, А.В. Зурочка // Медицинская иммунология. – 2011. – №1. – С. 7-16.

-
- 1** Костюкевич, О.И. Атрофический гастрит: что мы понимаем под этим состоянием. Современные подходы к диагностике и лечению / О.И. Костюкевич // Русский медицинский журнал, №28, ИД РМЖ. – Москва, 2010. – С. 1717-1722.
 - 2** Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process. First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention // *Cancer Res.* – 1992. – Vol. 52. – P. 6735–6742.
 - 3** Tanno, T. Development and maintenance of cancer stem cells under chronic inflammation. *J. Nihon. Med. Sch.* / T. Tanno, W. Matsui // 2011, vol. 78, no. 3, pp. 138-145.
 - 4** Multhoff, G. Chronic inflammation in cancer development. *Front. Immunol.* /G. Multhoff, M. Molls, J. Radons // 2011, vol. 2, pp. 98.
 - 5** Соснина А.В. Цитокинпродуцирующий потенциал клеток крови и цитокины сыворотки больных хроническим атрофическим гастритом / А.В. Соснина [и др.] // *Медицинская иммунология* Т. 15, № 3. – Новосибирск, 2013. – С. 247-254.
 - 6** Агеева Е.С. Роль TNF- α в развитии *Helicobacter pylori*-ассоциированного хронического атрофического гастрита / Е.С. Агеева, О.В. Штыгашева // *Сибирское медицинское обозрение* №3. – Абакан, 2013. – С. 30-32.
 - 7** Буторин Н.Н. Распространенность и факторы риска атрофического гастрита / Н.Н. Буторин, А.В. Васютин, О.С. Амельчугова, М.И. Новицкая // Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, г. Абакан "Научно исследовательский институт медицинских проблем Севера" Сибирского отделения Российской академии медицинских наук ,г. Красноярск, 2012. – С. 149-152.

-
- 8 Матвеева Л.В. Состояние секреторной и регенераторной функций желудка при канцерогенезе / Л.В. Матвеева, Л.М. Мосина // Сибирский онкологический журнал № 6 (54). – Саранск, 2012. – С 54-56.
- 9 Вернигородский, С.В. Особенности структурных изменений слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите у лиц разных возрастных групп / С.В. Вернигородский // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2014. – С. 4-7.
- 10 Агеева Е.С. Роль IL-2 и IL-4 в регуляции апоптоза лимфоцитов крови у пациентов с инфекцией *Helicobacter pylori* / Е.С. Агеева [и др.] // Сибирский медицинский журнал № 2. – Абакан, 2013. – С.64-66.
- 11 Агеева Е.С. Эффекты цитокинов в патогенезе *Helicobacter pylori*-ассоциированных хронического гастрита и язвенной болезни / Е.С. Агеева // Сибирский медицинский журнал № 2. - Абакан, 2014. – С. 5-8.
- 12 Аруин, Л.И. Хронический гастрит / Л.И. Аруин // 1993. – 362 с.
- 13 Цуканов, В.В. Распространенность атрофического гастрита тела желудка у населения г. Красноярска старше 45 лет / В.В. Цуканов, О.В. Третьякова, О.С. Амельчугова и др. // Рос.журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.- 2012.- №4.- С. 27-31.
- 14 Прихода, И.В. Иммунологическая реактивность при хроническом гастрите / И.В. Прихода, М.М. Терещенко // Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко. – 2009. – С. 2-5.
- 15 Губергриц, Н.Б. Хронический гастрит: насколько это просто? / Н.Б. Губергриц // Частная гастроэнтерология. – 2010. - № 3(53). – С. 58-68.
- 16 Correa, P. The gastric precancerous cascade / P. Correa // Dig. Dis. – 2012. – Vol. 13(1). – P. 2-9.
- 17 Graham, D.Y. Eradication of gastric cancer and more efficient gastric cancer surveillance in Japan: two peas in a pod / D.Y. Graham, M. Asaka // Gastroenterol. – 2010. – Vol. 45. - № 1. – P. 1-8.
- 18 Кононов, А.В. Морфогенез атрофии слизистой оболочки желудка как основа фенотипа хронического гастрита / А.В. Кононов, С.И. Мозговой, М.В. Маркелова, А.Г. Шиманская // Архив патологии. – 2011. - № 3. – С. 26-31.
- 19 Dixon, M.F Classification and grading of gastritis. The updated Sydney system. International workshop on the histopathology of gastritis, Houston 1994 / M.F. Dixon, R.M. Genta, J.H. Yardley, et al. // Am J Surg Pathol. – 1996. – Vol. 20. – P. 1161–1181.
- 20 Ruge, M. Human Pathology / M. Ruge, R.M. Genta // 2005;36:228–33.
- 21 Звягинцева, Т.Д. Хронический гастрит / Т.Д. Звягинцева, Я.К. Гаманенко // Харьковская медицинская академия последипломного образования. – 2012. - № 3-4(2). – С. 28-35.

-
- 22 Маев, И.В. Принципы диагностики и рациональной фармакотерапии хронического гастрита / И.В. Маев, Н.Н. Голубев // *Болезни органов пищеварения.* – 2010. - № 28. – С. 1702-1706.
- 23 Саранчина, Ю.В. Оценка функционального состояния некоторых показателей иммунного ответа в патогенезе *Helicobacter pylori*-ассоциированного хронического гастрита: дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: 14.03.03 / Саранчина Юлия Владимировна. – Абакан, 2015. – 159 с.
- 24 Хомерики, С. Г. Роль кокковых форм *Helicobacter pylori* в патогенетических механизмах и персистенции хеликобактерной инфекции / С. Г. Хомерики, И. А. Морозов // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.* – 2001. - № 11 (2). - Прил. 13. – С. 99– 102.
- 25 Шкитин, В. А. Роль *Helicobacter pylori* в патологии человека / В. А. Шкитин // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* – 2002 . – Т.4. - № 2. – С.128-145.
- 26 Ющук, Н. Д. Иммуный ответ при инфекции, вызванной *Helicobacter pylori* / Н. Д. Ющук, И. В. Маев, К. Г. Гуревич // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* - 2003. - № 6. -С. 86—91.
- 27 Тец, В. В. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии иммунологии / В. В.Тец. - М.: Медицина, 2002. - 352 с.
- 28 Маев, И.В. Что мы знаем о хроническом гастрите / И.В. Маев, А.А. Самсонов, Н.Г. Андреев, С.А. Кочетов // *Фарматека.* – 2011. - № 10. – С. 10-16.
- 29 Исаков, В. А. Диагностика и лечение инфекции, вызванной *Helicobacter pylori*: IV Маастрихтское соглашение /В.А. Исаков // *Новые рекомендации по диагностике и лечению инфекции H.Pylori — Маастрихт IV (Флоренция). Best Clinical Practice.* Русское издание, 2012. – С. 4-23.
- 30 Непомнящих, Г.И. Структурные изменения клеточных популяций желудка при хроническом гастрите и хроническом гепатите в условиях персистенции *Helicobacter pylori* / Г.И. Непомнящих и др. // *Медицинские науки. Фундаментальные исследования.* – 2015. - № 1. – С. 1878-1883.
- 31 Исаков, В. А. Молекулярногенетические основы патогенности *Helicobacter pylori* / В. А. Исаков // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.* – 2002. - № (12) 6. – С. 82 - 85.
- 32 Кудрявцева, Л. В. *Helicobacter pylori*- инфекция: современные аспекты диагностики и терапии (пособие для врачей) / Л. В. Кудрявцева, П. Л. Щербаков, И. О. Иваников и др. Москва, 2004 - 41 с.
- 33 Сарсенбаева, А. С. Методы диагностики инфекции *Helicobacter pylori*: учебное пособие / А. С. Сарсенбаева, Г. Л. Игнатова, С. В. Воротникова. - Челябинск.- ООО УралМедИнфо. - 2005. - 27с.
- 34 Ющук, Н. И. Инфекция *Helicobacter pylori* / Н. И. Ющук, В. Т. Ивашкин, И. В. Маев // *Мед. Газета.* - 2006. — № 40. — С. 8-9.

-
- 35 Дябкин, Е. В. Состояние иммунной системы при патологии печени / Е. В. Дябкин, С. С. Дунаевская, Ю. С. Винник // *Новости хирургии.* – 2011. – Т. 19. - №1. - С. 112 - 116.
- 36 Домарадский И. В. Вопросы патогенности *Helicobacter pylori* / И. В. Домарадский // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* - 2001. - №2. - С.113-115.
- 37 Фрейдлин, И. С. Иммунная система и ее дефекты: Руководство для врачей / И. С. Фрейдлин. – НТФФ Полисан, г. Санкт-Петербург – 1998. – 113 с.
- 38 Мирутко, Д. Д. *Helicobacter pylori*: патогенность, иммунный ответ организма и перспективы иммуномодулирующей терапии / Д. Д. Мирутко, А. В. Сапотницкий // *Медицинский журнал.* - 2005. — № 3. — С. 90-93.
- 39 Осадчук, М.М. Хеликобактериоз. Актуальные и нерешенные проблемы патогенеза и лечения / М.М. Осадчук, В.И. Купаев, А.М. Осадчук // *Практическая медицина.* – 2012. - № 1(56). – С. 16-21.
- 40 Агеева, Е. С. Молекулярно-генетические факторы, влияющие на исход инфицирования *Helicobacter pylori* у жителей Республики Хакасия / Е. С. Агеева, О. В. Штыгашева, Н. В. Рязанцева и др. // *Российский журнал Гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* - 2010. - №4. - С. 16-21.
- 41 Нижевич, А. А. Значение анти- *saqA* серологического иммунного ответа у детей с язвенной болезнью желудка и дпк, ассоциированной с НР / А. А. Нижевич, Е. С. Кучина, Э. Н. Ахмадеева // *Фундаментальные исследования.* – 2012. - № 4. – С. 212-215.
- 42 Сачек, М. Г. Эрадикационная терапия в профилактике и лечении анастомозита в хирургии язвенной болезни / М. Г. Сачек, С. Н. Ермашкевич // *Новости хирургии.* - 2010. – Т. 18. - №3 - С. 32-46.
- 43 Цуканов, В. В. Эпидемиология язвенной болезни (монография) / В. В. Цуканов, О. В. Штыгашева, С. В. Баркалов. - Красноярск: Сибирь, 2004. - 198 с.
- 44 Цуканов, В. В. Распространенность *SaqA*-позитивных штаммов *Helicobacter pylori* и язвенной болезни в популяции Восточной Сибири / В. В. Цуканов, С. В. Баркалов, Ю. Л. Тонких и др. // *Терапевтический архив.* - 2007. - № 79. (2). – С. 15–18.
- 45 Штыгашева, О. В. Гены и болезни хакасов / О. В. Штыгашева, Е. С. Агеева, В. Н. Харьков и др. - Красноярск: Поликор, 2010. - 296 с.
- 46 Correa P. The biological model of gastric carcinogenesis // *IARC Sci. Publ.* – 2004. – Vol. 157. – P. 301–310.
- 47 *Helicobacter pylori* infection and early gastric cancer / K. Takeuchi, Y. Ohno, Y. Tsuzuki [et al.] // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2003. – Vol. 36, N 4. – P. 321– 324.
- 48 Павлович, И.М. Влияние *Helicobacter pylori* на морфологическое состояние слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите / И.М. Павлович, А.В. Гордиенко, С.С. Бацков, Д.В. Лавренчук // *Медико - биологические и социально - психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях.* - 2013. - № 2. – С. 32-35.
- 49 Спасова, Т.Е. Особенности течения язвенной болезни желудка на фоне хронического атрофического гастрита (по данным гастрологического отделения

РКБ им. Семашко) / Т.Е. Спасова // Вестник Бурятского государственного университета, №12, Бурятский государственный университет. - Улан – Удэ, 2010. - С. 179-182.

50 Пасечников, В.Д. Процессы клеточного обновления при *H. pylori*-ассоциированном хроническом атрофическом гастрите / В.Д. Пасечников, А.В. Балабеков, С.З. Чуков // Клиническая гастроэнтерология. – 2010. – С. 8-12.

51 Степанов, Ю.М. Повышение информативности эндоскопической диагностики предраковых изменений и рака желудка у больных с атрофическим гастритом / Ю.М. Степанов, Е.В. Симонова // Гастроэнтерология, №4, Институт гастроэнтерологии НАМН Украины. - Днепрпетровск, 2013. - С. 23-33.

52 Veijola LI, Association of autoimmune type atrophic corpus gastritis with *Helicobacter pylori* infection / LI Veijola, AM Oksanen, PI Sipponen, НIK Rautelin // World J Gastroenterol; №16(1). – 2010. - С. 83-88.

53 Yanaoka Kimihiko, Eradication of *Helicobacter pylori* prevents cancer development in subjects with mild gastric atrophy identified by serum pepsinogen levels / Kimihiko Yanaoka, Masashi Oka, Hiroshi Ohata, Noriko Yoshimura, Hisanobu Deguchi // International journal of cancer. – 2009. – С. 2697-2703.

54 Волкова, Н.Н. Факторы риска развития хронического атрофического гастрита / Н.Н. Волкова // Русский медицинский журнал, №31, ИД РМЖ. - Москва, 2013. - С. 1617-1620.

55 Пасечников, В.Д. Состояние иммунного ответа у пациентов с *H. Pylori*-ассоциированным хроническим атрофическим гастритом и ранним раком желудка в зависимости от серотипа возбудителя / В.Д. Пасечников, Л.Р. Джанибекова, С.З. Чуков // Практическая медицина, №3 (58), Общество с ограниченной ответственностью «Практика». - Казань, 2012. - С. 56-58.

56 Субботин, А.М. Современные представления о диагностике и патогенезе атрофического гастрита / А.М. Субботин, С.А. Блащенкова // Поволжский онкологический вестник. – 2010. – С. 66-73.

57 Вернигородский, С.В. Полная кишечная метаплазия слизистой оболочки желудка как предраковое состояние: проблемы патоморфологической диагностики / С.В. Вернигородский // Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова. – 2010. – С. 1-8.

58 Вернигородский С.В. Сравнительная оценка и анализ патоморфологической и эндоскопической картины слизистой оболочки желудка при кишечной метаплазии / С.В. Вернигородский, Л.В. Дегтярева, К.В. Баранников, М.В. Мнихович, А.А. Гаврилюк // «Наука молодых» (Eruditio Juvenium). – 2014. – С. 8-18.

59 Балабеков, А.В. Пролиферация и апоптоз при *H. Pylori*-ассоциированном хроническом атрофическом гастрите с метаплазией эпителия / А.В. Балабеков, В.Д Пасечников, С.З. Чуков // Кубанский научный медицинский вестник, №6, Кубанский государственный медицинский университет. - Краснодар, 2009. - С. 93-97.

-
- 60 Laszlo Szabo Imre, Diagnosis of Gastritis – Review from early pathological evaluation to present day management / Imre Laszlo Szabo, Kata Cseko, Jozsef Czimmer, Gyula Mozsik // *Current Topics in Gastritis*. – 2012. – С. 3-19.
- 61 Бектаева, Р.Р. Скрининг и профилактика предрака и раннего рака желудка / Р.Р. Бектаева В.В. Бенберин А.С. Лебедев // *Вестник НЦ БЖД*, №2 (20), Научный центр безопасности жизнедеятельности. - Казань, 2014, С. 114-116.
- 62 Павлович, И.М. Диагностическая значимость показателей кислотообразующей и пепсинообразующей функции желудка в выявлении предопухолевого потенциала у больных с хроническим атрофическим гастритом / И.М. Павлович, А.В. Гордиенко, С.С. Бацков // *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*, №3, Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова. - Санкт-Петербург, 2012. - С. 29-32.
- 63 Соломенцева, Т.А. Хронический гастрит с позиции канцерпревенции. Эволюция представлений / Т.А. Соломенцева // *Частная гастроэнтерология*. – 2013. - № 4(72). – С. 135-140.
- 64 Козлов, В.К. Цитокиноterapia: патогенетическая направленность при инфекционных заболеваниях и клиническая эффективность. – СПб.: Альтер Эго / В.К. Козлов // 2010. – 148 с.
- 65 Матвеева Л.В. Интерлейкиновый профиль крови в сопоставлении с выраженностью воспалительного, атрофического и язвенного процессов в слизистой оболочке желудка / Л.В. Матвеева, Л.М. Мосина, Е.А. Митина // *Медицинские науки. Фундаментальные исследования* №7. – Саранск, 2013. - С. 133-137.
- 66 Змушко, Е.И. Клиническая иммунология. Руководство для врачей / Е. И. Змушко, Е. С. Белозеров, Ю. А. Митин // 2001. - С. 77-95.
- 67 Парахонский, А.П. Паракринная и аутокринная цитокиновая регуляция иммунного ответа / А. П. Парахонский // «Современные наукоемкие технологии» №8, 2007. - С. 1-2.
- 68 Kimmings, A.N. Endotoxin, cytokines, and endotoxin binding proteins in obstructive jaundice and after preoperative biliary drainage / A. N. Kimmings et al. // *Gut* 2000; №46, P. 725–731.
- 69 Bodger, K. Gastric mucosal secretion of interleukin-10: relations to histopathology, Helicobacter pylori status, and tumor necrosis factor-alpha secretion. /K. Bodger, J.I. Wyatt, R.V. Heatley // 1997, v. 40, p. 739 – 744.
- 70 Hold, G.L. Innate Immune Sensors and Gastrointestinal Bacterial Infections / Hold G.L., Mukhopadhyaya I., Monie T.P. // *Clinical and Developmental Immunology*. – 2011. – Vol. 2011. – P.1-11.
- 71 Rudnicka, K. Helicobacter pylori antigens as potential modulators of lymphocytes cytotoxic activity /K. Rudnicka et al. // *Microbiology and Immunology*. – 2012 –Vol. 56. №1.– P.62-75.

- 72 Варюшина Е.А. Провоспалительные цитокины в регуляции процессов воспаления и репарации / Е.А. Варюшина // Иммунология. – Санкт-Петербург, 2012. – С.46-58.
- 73 Хаитов, Р.М. Иммунология / Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатьева, И.Г. Сидорович // Иммунология: Учебник. — М.: Медицина, 2000. —432 с.
- 74 Саранчина Ю.В. Особенности продукции интеллейкина-8 при *Helicobacter pylori* – ассоциированном атрофическом гастрите / Ю.В. Саранчина, Е.С. Агеева // ФГБОУ ВПО Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова. – Абакан, 2013. – С.44-48.
- 75 Маркелова, Е.В. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно воспалительных заболеваниях / Е.В. Маркелова, А.В. Костюшко, В.Е. Красников // Тихоокеанский медицинский журнал. — 2008. — № 3. — С. 24-29.
- 76 Система цитокинов: теоретические и клинические аспекты / под ред. В.А. Козлова. - Новосибирск: Наука, 2004. – 324 с.
- 77 Ефремова А.В. Роль гуморальных факторов иммунной системы в развитии хронического гастрита в условиях севера / А.В. Ефремова [и др.] // Клиническая медицина. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН №3(79), Часть 1. – Якутск, 2011. – С.34-37.
- 78 Штыгашева О.В. Роль иммунорегуляторных цитокинов в патогенезе хронического гастрита и язвенной болезни, поиск предикторов заболеваний / О.В. Штыгашева, Е.С. Агеева, В.М. Иптышев // Сибирский медицинский журнал № 1. – Абакан, 2011. – С. 88-90.
- 79 Жуков, В.И. Состояние мониторинговых метаболических показателей у больных гастроканцерогенезом и атрофическим хроническим гастритом / В.И. Жуков, Ю.А. Винник, Ю.П. Белевцов, И.М.Васильева // Харьков. – 2013. – С. 21-23.
- 80 Мосина, Л.М. Иммуно-секреторные параллели при хроническом гастрите / Л.М. Мосина, М.А. Стенина, Л.В. Матвеева // Медицинский альманах, № 1 (25). – 2013. – С. 28-31.
- 81 Ping Li, Pepsinogen I and II expressions in situ and their correlations with serum pepsinogen levels in gastric cancer and its precancerous disease / Ping Li, Caiyun He, Liping Sun, Nannan Dong and Yuan Yuan // BMC Clinical Pathology. – 2013. – С. 1-10.
- 82 Kazumasa M iki, Gastric cancer screening by combined assay for serum anti-*Helicobacter pylori* IgG antibody and serum pepsinogen levels—“ABC method” / Kazumasa M iki // Proc. Jpn. Acad., Ser. B 87. – 2011. – С. 405-414.
- 83 Решетников, О.В. Риск развития рака желудка в зависимости от серологических маркеров атрофического гастрита: популяционное исследование / О.В. Решетников, Т.Г. Опенко, Г.И. Симонова, С.А. Курилович, С.К. Малюткина, Ю.И. Рагино, М.И. Воевода // Вопросы онкологии, том 58, № 5. – Новосибирск. – 2012. – С. 644-648.

-
- 84 Xiao-mei Zhang, The value of serum pepsinogen levels for the diagnosis of gastric diseases in Chinese Han people in midsouth China / Xiao-mei Zhang, Jia-xin Li, Gui-ying Zhang, Xin-hua Li, Huan Gu // BMC Gastroenterology. – 2014. – С. 3-6.
- 85 Бордин, Д.С. «Серологическая биопсия» и скрининг рака желудка / Д.С. Бордин, М.Ю. Бяхов, Л.В. Федуленикова // Журнал «Злокачественные опухоли». – 2012. – С. 30-36.
- 86 Seon-Young Park, Low pepsinogen i level predicts multiple gastric epithelial neoplasias for endoscopic resection / Seon-Young Park, Sung-Ook Lim, Ho-Seok Ki, Chung-Hwan Jun, Chang-Hwan Park, Hyun-Soo Kim, Sung-Kyu Choi, Jong-Sun Rew // Gut and Liver, Vol. 8, No. 3. – 2014. – С. 277-281.
- 87 Xue-Yuan Cao, Serum pepsinogen II is a better diagnostic marker in gastric cancer / Xue-Yuan Cao, Zhi-Fang Jia, Mei-Shan Jin, Dong-Hui Cao, Fei Kong, Jian Suo, Jing Jiang // World Journal of Gastroenterology. – 2012. – С. 7357-7361.
- 88 Ebule IA, Helicobacter pylori infection and atrophic gastritis / Ebule IA, Longdoh AN, Paloheimo IL // African Health Sciences, №13(1). - 2013. – С. 112 – 117.
- 89 Егоров, А. М. Теория и практика иммуноферментного анализа– М.: Высш. шк. / А. М. Егоров, А. П. Осипов, Б. Б. Дзантиев, Е. М. Гаврилова. – 1991. - 288с.
- 90 Иммуноферментный анализ: Пер. с англ./Под ред. И53 Т. Нго и Г. Ленхоффа — М.: Мир. - 1988. — 446 с.
- 91 Самуилов, В. Д. Иммуноферментный анализ / В. Д. Самуилов // Соросовский образовательный журнал. -1999. - №12. -С. 9-15
- ⁹² Rugge, M. OLGA staging for gastritis: a tutorial / M. Rugge, P. Correa, F. Di Mario // Dig Liver Dis. — 2008. - Vol. 40 (8). — P. 650-658.
- 93 Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета статистических программ Statistica / О.Ю. Реброва. – Москва : Медиа Сфера, 2006. – 312 с.